



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**AVALIAÇÃO DA DENSIDADE CELULAR PULPAR EM DENTES
DE RATO WISTAR SUBMETIDOS AO RUÍDO INDUSTRIAL**

Trabalho submetido por
Ana Margarida de Almeida Carlos Chapita Leonardo
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

setembro de 2019



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**AVALIAÇÃO DA DENSIDADE CELULAR PULPAR EM DENTES
DE RATO WISTAR SUBMETIDOS AO RUÍDO INDUSTRIAL**

Trabalho submetido por
Ana Margarida de Almeida Carlos Chapita Leonardo
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Maria Alzira Cavacas

setembro de 2019

“Toda a grande caminhada começa com um simples passo”

Buda

Agradecimentos

A vocês, queridos pais, por me ensinarem o verdadeiro significado da palavra amor. Por serem sempre o meu pilar em qualquer que seja o obstáculo ou a vitória da minha vida, porque sem vocês não seria o que sou hoje e não teria o mesmo gosto realizar este meu sonho. Obrigada por acreditarem sempre em mim, por me ensinarem a lutar pelos meus objetivos e por me fazerem acreditar que quando queremos, conseguimos tudo. Queridos pais, vocês são o melhor de mim!

À minha querida Orientadora, Professora Doutora Maria Alzira Cavacas que, desde o início deste meu percurso, foi um exemplo máximo de excelência e determinação. Obrigada Professora, por ter cativado o meu interesse pela Histologia, pelos conselhos prestados e por se encontrar sempre disponível com um sorriso desde o início deste trabalho. Sem dúvida que me transmitiu conhecimento e muita vontade para trabalhar e lutar pelo meu objetivo. O culminar deste percurso não seria o mesmo sem a especial presença da Professora.

A ti, Gualter, obrigada por todo o apoio durante estes anos, por estares sempre do meu lado, a escutar todas as aventuras desta minha maravilhosa etapa e a festejar cada vitória como se fosse tua. Sempre me fizeste acreditar em mim e na realização deste sonho. Obrigada do fundo do coração.

Aos meus amigos, por estes cinco anos maravilhosos. Desde o primeiro ao último dia deste curso, com vocês aprendi o quão importante são as pessoas que nos acompanham nestas etapas, porque só com interajuda e apoio é que conseguimos realizar os nossos sonhos. A todas as grandes amizades que se criaram, às pessoas que se cruzaram comigo, desde funcionários a professores, um grande obrigada.

À minha segunda casa, Egas Moniz, por me ter acolhido durante estes cinco anos, oferecendo-me aprendizagem, momentos únicos e pessoas especiais. Sem dúvida, foram os melhores anos da minha vida.

Resumo

Introdução: O ruído industrial é um fator cotidiano de máxima importância por interagir com inúmeros aspectos humanos fisiológicos. O Ruído de Baixa Frequência (RBF), também denominado de Ruído Industrial, é considerado um fator de *stress* que implica inúmeras alterações no corpo humano. O *stress* excessivo resulta numa hiperatividade dos músculos mastigatórios, que conseqüentemente se manifestam em atividades parafuncionais, como o bruxismo. Tanto pela vibração direta do ruído como pelos hábitos parafuncionais gerados, o dente sofre modificações, em particular, nas células pulpares.

Objetivo: Comparar a densidade celular pulpar de dentes submetidos ao ruído industrial e a densidade celular pulpar de dentes não submetidos ao ruído.

Materiais e Métodos: O estudo foi conduzido seguindo os materiais utilizados nos estudos de Cavacas (2014; 2015). As 39 lâminas foram fotografadas abrangendo a região da polpa coronária da cúspide em questão: duas ampliações foram utilizadas 10x e 40x. Posteriormente, foram selecionadas lâminas de controlo e de exposição do 1º, 3º, 5º e 7º meses, para análise da dentina, pré-dentina, camada odontoblástica, camada subodontoblástica e fibroblastos, de modo a comparar a morfologia e histologia destas cinco regiões.

Resultados: As amostras constituídas pelas lâminas de exposição ao RBF demonstraram um aumento da espessura da dentina, diminuição da camada de pré-dentina, alteração da morfologia dos odontoblastos para um padrão pseudo-estratificado com corpo ovóide, diminuição na densidade celular da camada subodontoblástica e desorganização estrutural dos fibroblastos que apresentam uma configuração achatada e encurtada.

Conclusões: A exposição ao ruído industrial pode desencadear um envelhecimento precoce, tanto pela vibração como pela ação do *stress*. O RBF tem capacidade de provocar uma reação por parte do complexo pulpo-dentinário, com alterações morfológicas e histológicas compatíveis com o envelhecimento dentário.

Palavras-chave: ruído industrial, ruído de baixa frequência, rato *Wistar*, *stress*, densidade celular pulpar.

Abstract

Introduction: Industrial noise is a major everyday factor in interacting with numerous physiological human aspects. Low Frequency Noise (RBF), known also as Industrial Noise, is considered a *stress* factor that involves numerous changes in the human body. Excessive *stress* results in hyperactivity of the chewing muscles, which consequently manifest themselves in parafunctional activities, particularly bruxism. In both vibration and noise, as well as in the parafunctional habits generated, the tooth undergoes changes, particularly in pulp cells.

Aim: To compare pulp cell density of teeth subjected to industrial noise and pulp cell density of teeth not subjected to noise.

Material and Methods: The materials used in this study were the same as the Cavacas investigations (2014; 2015). The 39 slides were photographed covering the region of the cusp coronary pulp in question, with and amplitude of 10x and 40x. After that, control and exposure slides of the 1st, 3rd, 5th and 7th months were selected for analysis of dentin, pre-dentin, odontoblastic layer, subodontoblastic layer and fibroblasts, in order to compare the morphology and histology of these five regions.

Results: RBF exposure slide samples showed increased dentin thickness, decreased pre-dentin layer, odontoblast morphology which changed to a pseudostratified pattern with an ovoid body, decreased density of subodontoblastic layer and the disorganized fibroblasts that appeared flat and shortened.

Conclusions: Exposure to industrial noise can trigger premature teeth aging by both vibration and *stress* action. RBF has the capacity to provoke a reaction on the part of the pulp-dentin complex, with morphological and histological changes compatible with dental aging.

Key Words: industrial noise, low frequency noise, *Wistar* rat, *stress*, pulp cell density.

Índice

Índice de Figuras	7
Índice de Tabelas.....	11
Lista de Siglas	12
I. Introdução	13
1. Ruído Ambiental e Saúde.....	13
2. Som e Ruído, Ruído Industrial, Ruído de Baixa Frequência (RBF).....	14
3. Avaliação e quantificação do ruído.....	15
4. Alterações induzidas pelo RBF/Ruído Industrial.....	16
5. Dente	18
5.1. Esmalte	21
5.2. Dentina	23
5.3. Polpa.....	27
5.4. Odontoblastos.....	34
5.5. Dinâmica do complexo pulpo-dentinário	37
5.6. Envelhecimento dentário.....	37
5.7. Sistema Estomatognático do rato <i>Wistar</i>	40
6. Ruído Industrial e Stress	41
7. Hábitos Parafuncionais.....	42
8. Desgaste dentário	43
II. Objetivos e Hipóteses	47
III. Materiais e Métodos	49
1. Materiais e Métodos	49
1.1. Modelo Animal	49
1.2. Exposição ao RBF	49
1.3. Modelo Histológico.....	50
1.4. Protocolo Experimental.....	50
IV. Resultados	51
1. Análise Histológica	51

1.1.	Grupo 1º Mês	51
1.2.	Grupo 3º Mês	53
1.3.	Grupo 5º Mês	55
1.4.	Grupo 7º Mês	57
V.	Discussão.....	61
VI.	Conclusão.....	67
VII.	Bibliografia.....	69

Índice de Figuras

Figura 1. O espectro do som e a sua nomenclatura (adaptado de Hassmén, 1996).14

Figura 2. Efeitos cardiovasculares por exposição a RBF de acordo com Babish (adaptado de Babish, 2014).....17

Figura 3. As diferentes fases da odontogénese. À esquerda encontramos as fases de botão, chapéu, sino, dentinogénese e amelogénese, com a posterior deposição de dentina e esmalte, a sua erupção e o estado final de função. À direita estão representadas as alterações morfológicas celulares correspondentes a cada fase da embriologia dentária (adaptado de Avery & Chiego, 2006).19

Figura 4. Relação entre as estrias de Retzius e as cristas *perikymatas* (setas). Deposição das estrias de Retzius e a sua manifestação à superfície do esmalte (*perikymatas*). À esquerda, observa-se um corte vertical com os componentes dentários. À direita, observam-se que as estrias de Retzius vão desaparecendo gradualmente em cervical (adaptado de Nanci, 2014).22

Figura 5. Tipos de dentina e a sua distribuição. Pré-dentina (a) é a primeira camada de dentina depositada, sendo não-mineralizada. Dentina primária (b), nomeada assim por ser o primeiro tipo de tecido dentinário mineralizado. Dentina do manto (b') encontrada perto do esmalte ou do cimento, apresenta-se não mineralizada, sendo um tipo de dentina primária. Dentina secundária (c), desenvolve-se após a completa formação da raiz, sendo secretada pelos odontoblastos durante o seu tempo de vida. Dentina terciária (d) é produzida em reação a estímulos externos, sendo produzida pelas células diretamente afetadas (adaptado de Nanci, 2014).26

Figura 6. Ilustração esquemática da deposição de dentina reacionária em resposta a estímulos moderados (i.e.: cáries pouco profundas, abrasão/erosão moderadas) e de dentina reparadora em resposta a estímulos severos (i.e.: cáries muito profundas) (adaptado de Smith *et al.*, 1995).26

Figura 7. Representação esquemática da arquitetura histológica da polpa (adaptado de Nanci, 2014).	28
Figura 8. Diagrama representativo das várias estágios funcionais do odontoblasto. BM: membrana basal; Ce: centríolo; Col: colagénio; G: Complexo de Golgi; IEE: epitélio esmalte interno; JC: complexo juncional; m: mitocôndria; N: núcleo; Nu: nucléolo; processo odontoblástico; PD: pré-dentina; rER: retículo endoplasmático rugoso; SG: grânulo de secreção; Va: vacúolo (adaptado de Couve <i>et al.</i> , 2013).	35
Figura 9. Imagens de microscópico ótico demonstram mudanças histomorfológicas dos odontoblastos, camada subodontoblástica e fibroblastos representativos de 2 grupos de faixas etárias: 6-29 anos (a, c, e) e 50-80 anos (b, d e f) (adaptado de Daud <i>et al.</i> , 2014).	39
Figura 10. Espectro de distribuição das frequências e intensidades gravadas e reproduzidas no ambiente ao qual os animais foram expostos (adaptado de Cavacas, 2014).	50
Figura 11. Esquema da região do dente de rato <i>Wistar</i> analisada: corno pulpar e respetiva cúspide a uma ampliação de 10x e câmara do corno pulpar a 40x (adaptado de Kumar, 2011).	50
Figura 12. Fotomicrografias de cortes transversais de dentes de rato <i>Wistar</i> ao nível das cúspides mesiais. Amostras representativas de 1 mês de controlo (A) e de 1 mês de exposição (B) Observa-se um maior distanciamento da polpa coronária à respetiva cúspide e a presença de linhas incrementais de dentina terciária (*) (magnificação 10x, coloração HE).....	51
Figura 13. Fotomicrografias de cortes transversais de dentes de rato <i>Wistar</i> ao nível das cúspides mesiais. Amostras representativas de 1 mês de controlo (A) e de 1 mês de exposição (B), com uma magnificação de 40x (coloração HE). Dentina (D), pré-dentina (Pd), camada odontoblástica (Odb), túbulos dentinários (seta), camada subodontoblastística (Sub-Odb), zona pobre em células (p), fibroblastos (F), linhas incrementais de dentina terciária (*) e capilares sanguíneos (CS).....	52

Figura 14. Fotomicrografias de cortes transversais de dentes de rato *Wistar* ao nível das cúspides mesiais. Amostras representativas de 3 meses de controlo (A) e de 3 meses de exposição (B). Observa-se uma desorganização das células ao nível da polpa, nomeadamente na região odontoblástica e um maior distanciamento da polpa coronária à respetiva cúspide (magnificação 10x, coloração HE).53

Figura 15. Fotomicrografias de cortes transversais de dentes de rato *Wistar* ao nível de cúspides mesiais. Amostras representativas de 3 meses de controlo (A) e de 3 meses de exposição (B), com uma magnificação de 40x (coloração HE). Dentina (D) , pré-dentina (Pd), camada odontoblástica (Obd), túbulos dentinários (seta), camada subodontoblástica (Sub-Odb), zona pobre em células (p), fibroblastos (F), linhas incrementais de dentina terciária (*) e capilares sanguíneos (CS).54

Figura 16. Fotomicrografias de cortes transversais de dentes de rato *Wistar* ao nível das cúspides mesiais. Amostras representativas de 5 meses de controlo (A) e de 5 meses de exposição (B). Observa-se grande área de dentina terciária (*) e uma desorganização das células ao nível da polpa, nomeadamente na região odontoblástica (magnificação 10x, coloração HE).55

Figura 17. Fotomicrografias de cortes transversais de dentes de rato *Wistar* ao nível das cúspides mesiais. Amostras representativas de 3 meses de controlo (A) e de 5 meses de exposição (B), com uma magnificação de 40x (coloração HE). Dentina (D), pré-dentina (Pd), Camada odontoblástica (Odb), túbulos dentinários (seta), camada subodontoblástica (Sub-Odb) zona pobre em células (p), fibroblastos (F), linhas incrementais de dentina terciária (*).56

Figura 18. Fotomicrografias de cortes transversais de dentes de rato *Wistar* ao nível das cúspides mesiais. Amostras representativas de 7 meses de controlo (A) e de 7 meses de exposição (B). Observa-se uma desorganização das células ao nível da polpa, um encurtamento da câmara pulpar, um distanciamento desta à respetiva cúspide e linhas incrementais de dentina terciária (*) (magnificação 10x, coloração HE).57

Figura 19. Fotomicrografias de cortes transversais de dentes de rato *Wistar* ao nível das cúspides mesiais. Amostras representativas de 7 meses de controlo (A) e de 7 meses de exposição (B), com uma magnificação de 40x (coloração HE). Dentina (D), pré-dentina (Pd), camada odontoblástica (Obd), túbulos dentinários (seta), camada subodontoblástica (Sub-Odb) zona pobre em células (p), fibroblastos (F), linhas incrementais de dentina terciária (*).59

Índice de Tabelas

<i>Tabela 1.</i> Fluxograma representativo da sequência de eventos desencadeados pelo ruído industrial. O ruído industrial provoca um aumento do stress que, por sua vez, leva à ativação do eixo HHA e do sistema SNA, como também desencadeia uma hiperatividade muscular. Esta hiperatividade é causa do aparecimento de hábitos parafuncionais que levam ao desgaste severo. A ativação do eixo HHA gera uma adaptação que, juntamente com o aparecimento de desgaste dentário severo, estimulam os odontoblastos a secretarem dentina terciária, causando assim uma diminuição da câmara pulpar e consequentemente a diminuição da densidade celular e o seu rearranjo morfológico (adaptado de Cavacas, 2014).....	45
<i>Tabela 2.</i> Tempo de exposição total ao RBF para cada grupo (em horas) (adaptado de Cavacas, 2014).	49
<i>Tabela 3.</i> Descrição da densidade e morfologia dos cinco constituintes dentários analisados: dentina, pré-dentina, camada odontoblástica, camada subodontoblástica e fibroblastos.	59

Lista de Siglas

RBF – Ruído de Baixa Frequência

Hz - *Hertz*

dB – *decibel*

HHa – Hipotálamo-Hipófise-Adrenal

BM – Membrana Basal

Ce – Centríolo

Col – Colagénio

G – Complexo de Golgi

IEE – Epitélio de Esmalte Externo

JC – Complexo Juncional

m – Mitocôndria

N – Núcleo

Nu – Nucléolo

Odp – prolongamentos Odontoblásticos

PD – Pré-Dentina

rER – retículo Endoplasmático Rugoso

SG – Grânulo de Secreção

Va – Vacúolo

SNA – Sistema Nervoso Autônomo

D – Dentina

Pd – Pré-dentina

Odb – Odontoblastos

Sub-Odb – Sub-odontoblastos

w – zona de *Weil*

f – fibroblastos

CS – capilares sanguíneos

I. Introdução

1. Ruído Ambiental e Saúde

O ruído é reconhecido como um problema para a saúde pública, principalmente nas áreas urbanas e com a evolução dos tempos modernos. O ruído afeta os seres humanos durante toda a sua vida (Babisch, 2014) pois o organismo não se encontra preparado para criar uma barreira de proteção contra este.

A Organização Mundial de Saúde definiu o ruído ambiental como “ruído emitido por todas as fontes, exceto pelo ruído no local de trabalho industrial”. A Diretiva 2002/49/CE da União Europeia define o ruído ambiental como “som externo indesejado ou prejudicial criado por atividades humanas, incluindo o ruído de estradas, ferrovias, aeroportos e de instalações industriais”.

Segundo o artigo *Environmental Burden of Disease in Europe: Assessing Nine Risk Factors in Six Countries* (Hänninen, 2014), que envolveu um estudo em seis países (Bélgica, Finlândia, França, Alemanha, Itália e Holanda) sobre o impacto de nove fatores de risco de saúde populacional, o fator ruído ambiental é apresentado em segundo lugar.

A exposição ao ruído é responsável por inúmeras alterações a nível da saúde, tais como: deficiência auditiva, distúrbios no sono, efeitos cardiovasculares (alterações na pressão sanguínea e no ritmo cardíaco), alterações na frequência respiratória, alterações endócrinas, efeitos psicofisiológicos, sintomas psiquiátricos e alterações no desenvolvimento fetal. Além disso, o ruído tem efeitos no comportamento humano: aumenta a agressividade, e reduz o processo de partilha social (Stansfeld et al. 2000).

O *Livro Verde* da Comissão Europeia refere os efeitos do ruído industrial como um problema complexo e apresenta um esboço passo a passo de uma possível abordagem do desenvolvimento de um novo enquadramento para a política comunitária em matéria de ruído.

2. Som e Ruído, Ruído Industrial, Ruído de Baixa Frequência (RBF)

Os termos “som” e “ruído” são comumente usados como sinónimos. O som transforma-se em ruído quando causa efeitos adversos na saúde (Babisch, 2014).

O som perceptível pelo ser humano encontra-se numa frequência entre 20 a 20.000Hz, os infra-sons abaixo de 20Hz e o ultra-sons acima dos 20 KHz (figura 1) (Hassmén, 1996).

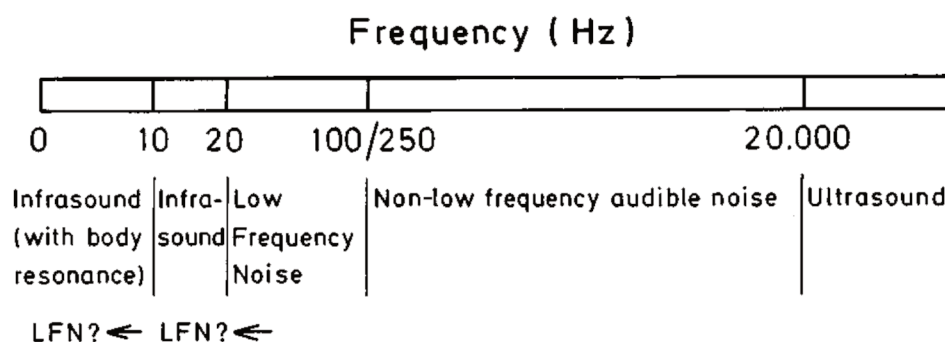


Figura 1. O espectro do som e a sua nomenclatura (adaptado de Hassmén, 1996).

A quantidade máxima de pressão sonora suportável pelo humano é de 140 dB (o limiar da dor) sendo que, o tráfico automóvel gera 80dB e uma simples conversa, 60dB (Oud, 2012).

O termo "ruído" é reconhecido como uma característica indesejável do ambiente (Oud, 2012). Contudo, a diferenciação entre som e ruído é subjetiva, dependendo da intensidade, frequência e duração do som, de fatores culturais, individuais, entre outros (Hassmén, 1996).

Ruído de baixa frequência (RBF) é normalmente descrito como um ruído de fundo em ambientes urbanos (sendo aqui chamado de ruído industrial) e emitido de muitas fontes artificiais como: veículos rodoviários, aeronaves, maquinaria industrial, explosões de artilharia e mineração, e máquinas de movimentação de ar, compressores e unidades de ventilação ou até ar condicionado (Hassmén, 1996).

O RBF apresenta uma frequência com valores abaixo dos 20/100Hz e uma amplitude de 80-110dB, não sendo audível pela maioria das pessoas, mas sentido como vibrações (apenas uma minoria da população humana consegue ouvir estas frequências) (Oliveira et al., 2007; Oud, 2012). Os mecanismos na cóclea são responsáveis por esta enorme sensibilidade e pelos efeitos que o RBF produz na saúde (Oud, 2012). Em

Portugal, o espectro considerado abrange desde os 10Hz aos 500Hz, incluindo o som audível e os infrassons (Cavacas, 2014).

Este tipo de ruído é pouco atenuado pelas paredes e outras estruturas; disfarça frequências mais altas; alcança grandes distâncias com pouca perda de energia devido à atenuação atmosférica e do solo; e é passível de condução óssea – isto é, são capazes de se transmitir no corpo humano (Hassmén, 1996; Oud, 2012). Assim, é de grande relevância os efeitos prejudiciais que o RBF pode provocar na saúde.

3. Avaliação e quantificação do ruído

A técnica digital que revolucionou gravações acústicas de sons complexos e as suas reproduções contribuiu para a evolução de equipamentos complexos para a avaliação e quantificação do RBF (Hassmén, 1996). Estes equipamentos contêm filtros medidores de pressão sonora (dB), desenvolvidos de modo a aproximar as características de resposta do sistema auditivo humano. Os filtros distinguem um som considerado “alto” de um “desagradável”, sendo que o mais utilizado é o “*A weighting filter*”, que apresenta os resultados em dBA (Hassmén, 1996).

Este filtro A apresenta uma correlação aceitável entre as medições físicas do som e a sua respetiva avaliação subjetiva, porém, subestima as frequências <100Hz. Vercammen (1992) sugeriu um limite adicional ao espectro do “*A weighting filter*” que se situaria entre 10-160Hz. Por outro lado, o filtro de mediação A parte do pressuposto de que as lesões provocadas pelo ruído se limitam ao aparelho auditivo, não tendo em conta que estas baixas frequências são passíveis de condução óssea, e que se devem unicamente às altas intensidades.

O Decreto-Lei nº182/2006, publicado pelo Diário da República, referente às prescrições mínimas de segurança e de saúde em matéria de exposição dos trabalhadores aos riscos devidos ao ruído, tem como principais objetivos: “a avaliação dos riscos, a adoção de medidas destinadas a prevenir ou a controlar os riscos, a informação, a formação e a participação dos trabalhadores, o acompanhamento regular dos riscos e das medidas de controlo e a vigilância adequada da saúde” de modo a “prevenir os riscos para a saúde humana”. Por outro lado, este Decreto-Lei estabelece o “valor limite de exposição e os valores de ação superior e inferior, determinando um conjunto de medidas a aplicar sempre que estes sejam atingidos ou ultrapassados”. A medição do nível do ruído, a

redução da exposição a este e a existência de medidas de proteção individual são ações igualmente indispensáveis nas prescrições de segurança e saúde encontradas neste Decreto-Lei.

4. Alterações induzidas pelo RBF/Ruído Industrial

O RBF é causa direta de inúmeros efeitos negativos na saúde, sendo de crítica relevância descrever as alterações induzidas no corpo humano.

Os efeitos do RBF na audição têm sido examinados como perda permanente ou temporária do limiar de audição (Hassmén, 1996). Estudos demonstram que a perda temporária de audição ocorre quando expostos a RBF e o período de recuperação auditiva depende do tom do som (Nixon e Johnson, 1973). Os estudos acerca de perda permanente do limiar de audição foram realizados em trabalhadores expostos continuamente a estes ruídos (Hassmén, 1996).

Estudos no CiiEM, Centro de Investigação Interdisciplinar do Instituto Universitário Egas Moniz, revelaram outras alterações em órgãos do rato *Wistar* quando submetido ao RBF, tais como: o espessamento da íntima das artérias, acompanhado de rutura da lâmina elástica interna (Martins dos Santos *et al.*, 2002), alterações nos vasos linfáticos, onde se observou uma dilatação das paredes e rutura valvular (Martins dos Santos *et al.*, 2004), tumefação do glomérulo renal e degeneração de podócitos (Martins dos Santos *et al.*, 2005) e lesões vasculares que incluem espessamento e fenómeno trombótico no estômago, hemangiogénese e fibrose da submucosa (Fonseca *et al.*, 2012). Estudos de Oliveira *et al.* (2012), provaram existir um aumento de tecido conjuntivo na região centrolobular do fígado de ratos *Wistar*. Antunes *et al.* (2013) revelaram existência de fibrose no músculo cardíaco nos ratos expostos a RBF e uma redução das conexinas que participam na coordenação da contração do miocárdio. Babisch (2014) estudou os efeitos cardiovasculares originados pela exposição ao ruído ambiental, relatando a hipertensão, arteriosclerose, doença cardíaca isquémica e trombose como as principais desordens (figura 2).

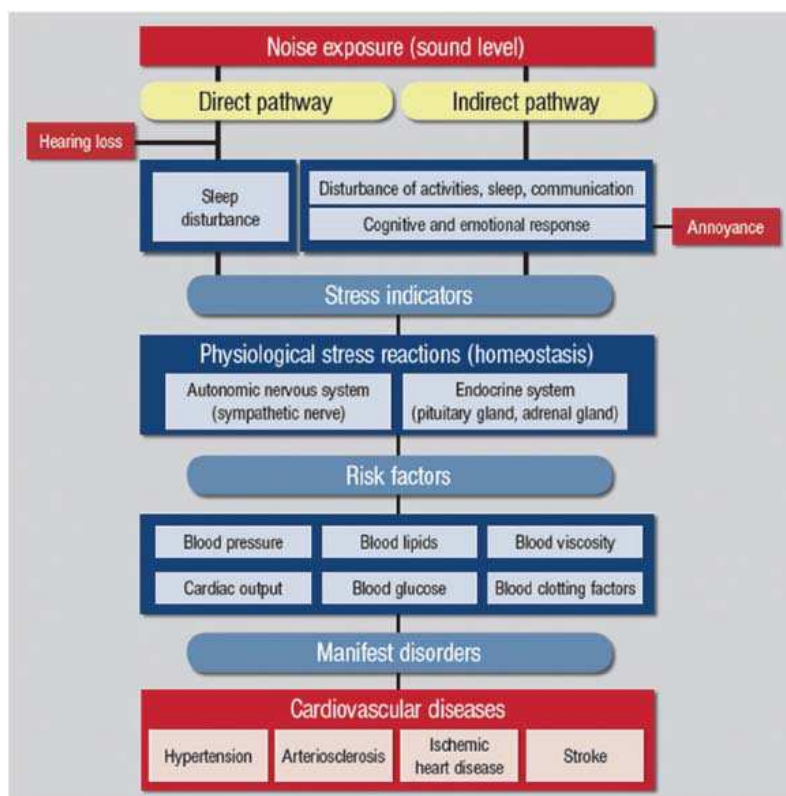


Figura 2. Efeitos cardiovasculares por exposição a RBF de acordo com Babish (adaptado de Babish, 2014).

As alterações morfológicas observadas no córtex adrenal interno, após exposição crônica dos ratos ao RBF, sugerem a ativação do eixo HHA pelo *stress* (Oliveira *et al.*, 2009).

Oliveira *et al.* (2007) estudaram os efeitos do RBF na glândula parótida de ratos *Wistar* tendo observado degenerescência vacuolar, necrose e morte celular, fibrose do tecido conjuntivo e espessamento da parede dos pequenos vasos; os mesmos autores descreveram alterações quantitativas e qualitativas da saliva com comprometimento da sua função.

As alterações do periodonto exposto ao RBF foram igualmente estudadas por Mendes *et al.* (2015), onde observaram necrose do osso alveolar e erosão irregular na sua superfície: provavelmente causados por um aumento da atividade osteoclástica.

Maior desgaste dentário também foi observado no dente quando exposto a ruído industrial, comumente relacionado com o *stress* (Cavacas *et al.*, 2015).

5. Dente

Os dentes são órgãos mineralizados, inseridos nos alvéolos da maxila e mandíbula, que são responsáveis por importantes funções como a mastigação, fonação e deglutição, tendo também relevância na estética facial e harmonia da cavidade oral.

Apresentam uma porção extra-alveolar, designada coroa e uma porção intra-alveolar, denominada raíz. O colo dentário tem função de unir as duas porções (Avery & Chiego, 2006; Berkovitz *et al.*, 2016).

A espécie humana apresenta 2 tipos de dentições, dependendo da idade: decídua e definitiva. A dentição decídua é composta por 20 dentes, em cada hemiarcada temos: 2 incisivos, 1 canino e 2 molares. A dentição definitiva substitui a decídua e abrange 32 dentes: 2 incisivos, 1 canino, 2 pré-molares e 3 molares, por hemiarcada. De modo geral, os dentes desenvolvem-se num sentido anteroposterior, o que se relaciona com o sequencial crescimento maxilar. Pelo que os molares definitivos não se desenvolvem até que exista espaço suficiente disponível para a sua formação na zona mais posterior da maxila e da mandíbula (Avery & Chiego, 2006).

Cada tipo de coroa dentária apresenta uma morfologia e função diferentes. Os incisivos têm forma de bisel e apresentam um bordo incisal, pelo que têm como função o corte dos alimentos. Os caninos, com coroa em forma de cone, têm o propósito de rasgar os alimentos. Os pré-molares e molares apresentam a coroa prismática e superfícies planas, pelo que a sua função é a trituração de alimentos (Berkovitz *et al.*, 2016). As saliências que as coroas dos dentes apresentam na face oclusal (ou de mastigação) denominam-se de cúspides (Williams *et al.*, 1995).

Os dentes variam ainda na morfologia e número das suas raízes, podendo ser monorradiculares, como os incisivos e caninos, ou multirradiculares, no caso dos pré-molares e molares (Kumar, 2011).

Relativamente à sua constituição, no interior encontra-se a polpa dentária, rica em tecido conjuntivo, vasos e nervos. A proteger a polpa, encontra-se a dentina na região coronária, tecido mineralizado de natureza conjuntiva, revestida pelo esmalte – considerado o tecido mais duro do organismo, inerte e acelular, de origem epitelial – e

por cimento na zona radicular (Nanci, 2014). Para além do cimento, encontramos o ligamento periodontal e o osso alveolar como tecidos de suporte.

Cada peça dentária, apesar de se desenvolver como uma unidade anatomicamente distinta, sofre um processo básico de formação dentária que é semelhante para todos – a odontogénese (Avery & Chiego, 2006; Berkovitz *et al.*, 2016). O processo de formação dentário origina-se a partir de dois tipos distintos de células, nomeadamente, as células epiteliais orais do órgão de esmalte (responsáveis pela formação do esmalte) e as células mesenquimatosas da papila dentária (que originam a dentina) (Linde & Goldberg, 1993; Avery & Chiego, 2006; Berkovitz *et al.*, 2016). O desenvolvimento dentário é o produto de interações recíprocas entre o epitélio dentário e condensações de células mesenquimatosas (Kollar & Baird, 1970).

A sequência de etapas da formação do dente são: fase de botão, fase de chapéu, fase de sino, dentinogénese e amelogénese. Durante estes estádios iniciais, os gérmes dentários crescem e expandem-se e as células que formam os tecidos duros diferenciam-se. Na fase de sino, decorre a formação de esmalte (processo de amelogénese) e de dentina (dentinogénese) e da polpa (figura 3) (Avery & Chiego, 2006; Nanci, 2014).

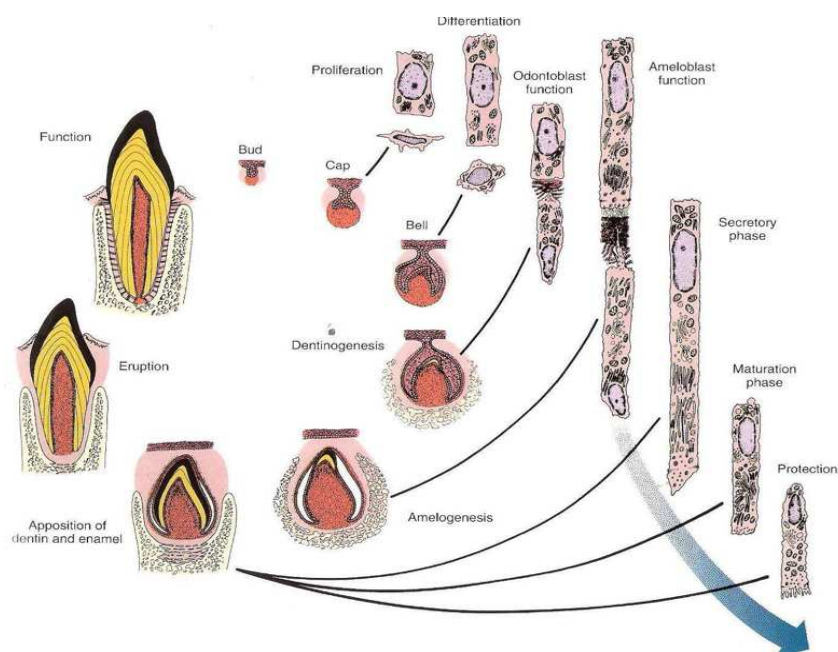


Figura 3. As diferentes fases da odontogénese. À esquerda encontramos as fases de botão, chapéu, sino, dentinogénese e amelogénese, com a posterior deposição de dentina e esmalte, a sua erupção e o estado final de função. À direita estão representadas as alterações morfológicas celulares correspondentes a cada fase da embriologia dentária (adaptado de Avery & Chiego, 2006).

No epitélio interno, as células de morfologia prismática diferenciam-se em ameloblastos, células responsáveis pela formação e mineralização da matriz do esmalte. Estas células adquirem características de células secretoras de proteínas e depois permanecem inativas até os odontoblastos produzirem a primeira camada de matriz dentinária (Cavacas, 2014). É de realçar o papel dos pré-ameloblastos porque induzem os odontoblastos da papila dentária a secretarem a matriz dentinária (dentinogénese).

O local onde ocorre a formação inicial de dentina é nas pontas das cúspides dentárias e, à medida que se vão depositando novos incrementos de matriz, mais odontoblastos vão sendo englobados neste processo, ao longo da junção amelodentinária. Os prolongamentos odontoblásticos vão-se alongando e a matriz é libertada em torno dos túbulos dentinários (Linde & Goldberg, 1993; Avery & Chiego, 2006).

Os ameloblastos exibem mudanças ao longo do seu processo de diferenciação e atravessam cinco estádios funcionais: morfogénese, organização e diferenciação, secreção, maturação e, por fim, proteção (Avery & Chiego, 2006; Hu *et al.*, 2007). A presença de matriz de dentina vai desencadear a diferenciação final dos ameloblastos, que desenvolvem no polo apical uma curta projeção cónica – o prolongamento de Thomes – tornando-se assim ativos e preparados para a sua função de secreção (Cavacas, 2014).

Os ameloblastos começam a deposição de esmalte depois da deposição de alguns micrómetros de dentina na junção amelodentinária. À medida que este processo prossegue, mais ameloblastos são ativados e assim os incrementos da matriz do esmalte tornam-se cada vez mais proeminentes. Nos dentes posteriores, que possuem múltiplas cúspides, a formação de esmalte não é homogénea nas diferentes zonas, verificando-se que o esmalte das diferentes cúspides está separado no início de todo este processo, juntando-se mais tarde na região intercuspídea da coroa dentária (Avery & Chiego, 2006; Berkovitz *et al.*, 2016).

A dentinogénese ocorre em duas fases. Primeiro é formada a matriz de colagénio, e de seguida ocorre a deposição de cristais de fosfato de cálcio (hidroxiapatite). Estes cristais crescem, alastram-se e fundem-se até que a matriz esteja mineralizada na totalidade. Somente a banda de pré-dentina recém-formada que circunda a polpa é que permanece descalcificada. Assim, enquanto a porção de pré-dentina é depositada no

limite pulpar, o incremento adjacente de pré-dentina formado anteriormente é calcificado, formando-se assim dentina (Linde & Goldberg, 1993; Avery & Chiego, 2006).

Assiste-se a um crescimento centrípeto da dentina (em direção à polpa) e a um crescimento centrífugo do esmalte (em direção ao epitélio oral) (Cavacas, 2014).

Assim que a coroa dentária se encontra totalmente formada e mineralizada, inicia-se a formação e desenvolvimento da raiz, bem como o desenvolvimento dos tecidos de suporte dentário: o cimento, o ligamento periodontal e o osso alveolar. A formação da raiz e a cementogénese prolongam-se até que o dente esteja funcional, e as suas estruturas de suporte totalmente desenvolvidas (Avery & Chiego, 2006).

A partir do tecido neural, no início do estágio de desenvolvimento, originam-se as células da crista neural que migram para as maxilas envolvendo-se com as células mesenquimatosas. Ao integrarem-se na papila dentária e com as células epiteliais do órgão de esmalte precoce vão promover o desenvolvimento dentário, mas também o desenvolvimento das glândulas salivares, tecido ósseo, tecido cartilaginoso, tecido nervoso e dos músculos faciais (Avery & Chiego, 2006; Berkovitz *et al.*, 2016).

O número e a morfologia dos dentes dependem das necessidades de cada espécie animal (Ohazama *et al.*, 2009). Como neste estudo se utilizaram amostras de rato *Wistar*, posteriormente iremos relatar as características únicas da sua cavidade oral.

5.1. Esmalte

O esmalte é a matriz calcificada mais dura do corpo humano, consistindo em 90% mineral e 4% matéria orgânica e água. Apresenta uma origem ectodérmica e o seu conteúdo inorgânico é composto por cristais de fosfato de cálcio – hidroxiapatite, que é igualmente encontrado no osso, cartilagem calcificada, dentina e cimento. O esmalte é o único tecido duro do organismo que não apresenta colagénio na sua matriz orgânica, sendo esta constituída por proteínas não colagénicas – 90% amelogeninas (proteínas de baixo peso molecular) e 10% não-amelogeninas (onde se destacam a enamelina e a ameloblastina) (Kumar, 2011; Nanci, 2014).

A sua espessura máxima é de 2,5mm em superfícies de trabalho, até uma camada cervical fina (Nanci, 2014).

Este tecido dentário recobre a coroa do dente, conferindo assim a sua morfologia (Avery & Chiego, 2006). Devido ao seu alto conteúdo, o esmalte é extremamente duro - o que permite a sua manutenção da ação de forças mecânicas durante a sua função. Contudo, uma subcamada de dentina resiliente é necessária para manter a sua integridade: se a dentina for destruída, o esmalte perde o seu suporte e fratura facilmente (Nanci, 2014).

O esmalte é translúcido e varia a sua cor de amarelo-claro a branco-acinzentado (Nanci, 2014).

O esmalte presente na coroa totalmente formada não apresenta células viáveis, vasos sanguíneos nem inervação. Os ameloblastos – células formadoras de esmalte – degeneram assim que a formação de esmalte termina logo, o tecido está totalmente formado antes da erupção (Kumar, 2011).

O esmalte é depositado a uma velocidade de $4\mu\text{m}$ por dia, no sentido centrífugo. Estes incrementos são identificáveis como: estrias de Retzius e bandas de Hunter-Schreger (figura 4). As estrias de Retzius apresentam padrão incremental de esmalte. As bandas de Hunter-Schreger, que representam as mudanças de direção dos primas de esmalte, exibem-se como estrias claras e escuras, de profundidade variáveis. Estes incrementos de esmalte apresentam-se na sua superfície como cristas *perikymatas* (Avery & Chiego, 2006; Kumar, 2011; Nanci, 2014).

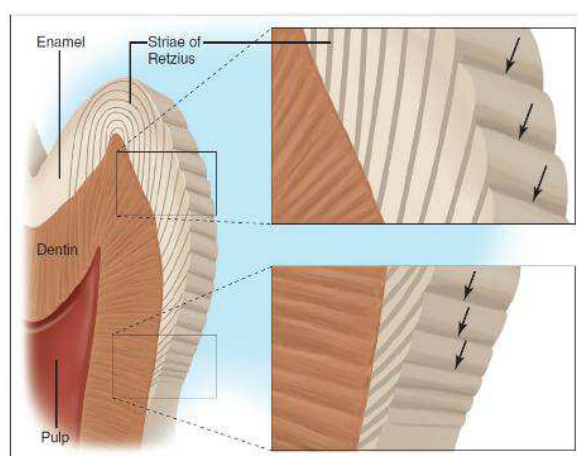


Figura 4. Relação entre as estrias de Retzius e as cristas *perikymatas* (setas). Deposição das estrias de Retzius e a sua manifestação à superfície do esmalte (*perikymatas*). À esquerda, observa-se um corte vertical com os componentes dentários. À direita, observam-se que as estrias de Retzius vão desaparecendo gradualmente em cervical (adaptado de Nanci, 2014).

5.2. Dentina

A dentina é o tecido duro do complexo pulpo-dentinário, (um pouco mais dura que osso mas menos que o esmalte), constituindo a maior parte do dente. Caracteriza-se pela presença de múltiplos túbulos dentinários compactos que percorrem toda a sua espessura e que contém os prolongamentos odontoblásticos – porção das células pulpares odontoblásticas que se estende desde a polpa até à dentina, sendo estas células as responsáveis pela formação e manutenção da dentina (Nanci, 2014). Esta porção dentária é considerada como tecido conjuntivo: a matriz extracelular é modificada de modo a conter uma fase mineral, que confere as características funcionais da dentina (Linde & Goldberg, 1993).

A dentina é formada por odontoblastos que se diferenciam de células ectomesenquimais da papila dentária. A sua formação ocorre anteriormente à do esmalte, determinando a anatomia da coroa e a dimensão e número das raízes (Kumar, 2011). A papila dentária é o órgão formativo da dentina (Nanci, 2014). A sua cor é branco-amarelada e contribui para a tonalidade do dente devido à translucência do esmalte (Cavacas, 2014).

A arquitetura tubular e a matriz orgânica fazem com que a dentina tenha uma capacidade de resistência à tensão e à compressão maior do que a do esmalte. Além disso, a dentina é permeável, característica que depende do diâmetro e do número de túbulos dentinários (que decrescem com o avançar da idade) (Berkovitz *et al.*, 2016).

Após a diferenciação dos odontoblastos, o próximo passo na produção de dentina é a formação da sua matriz orgânica (Nanci, 2014).

A matriz orgânica da dentina é composta por fibras de colagénio e macromoléculas não colagénicas. Estas macromoléculas (que tratam da mineralização do tecido) englobam fosfoproteínas, proteoglicanos, γ -carboxiglutamato contendo proteínas, outras proteínas ácidas não colagénicas, fatores de crescimento e lípidos (Linde & Goldberg, 1993).

A dentina madura é constituída por, aproximadamente, 70% de matéria inorgânica, 20% de matéria orgânica (colagénio, várias matrizes de lípidos e proteínas) e 10% de água (Linde & Goldberg, 1993; Avery & Chiego, 2006; Nanci, 2012).

A componente inorgânica consiste em hidroxiapatite, e a fase orgânica é composta por 90% de colagénio, maioritariamente do tipo I e com uma pequena porção

de tipo V incluindo ainda as proteínas não colagénicas que são responsáveis por preenchimento do espaço entre as fibras de colagénio (Nanci, 2012).

A formação de dentina – dentinogénese – é altamente regulada e controlada, envolvendo diferentes mecanismos tais como a diferenciação celular, a síntese de matéria orgânica e a formação de cristais minerais da matriz extracelular. Trata-se de um processo intensamente controlado por inúmeros constituintes celulares e extracelulares: a interação entre vários fatores acontece tanto na fase de diferenciação e morfogénese como na formação de cristais minerais na matriz extracelular (Linde & Goldberg, 1993).

A forma primitiva da dentina é referida como *osteodentina*, sendo que durante a evolução deste tecido, as células tornam-se polarizadas, embora se encontrem embebidas em tecido mineralizado (Linde & Goldberg, 1993). Primeiro, a dentina é depositada como uma camada de matriz não-mineralizada chamada de pré-dentina, que consiste principalmente em colagénio e é semelhante ao osteoide no osso (Nanci, 2014). A fase mineral constitui 70% do peso base da dentina: 20% matéria orgânica e 50% matéria inorgânica; sendo que a percentagem restante (30%) se trata de água (Linde & Goldberg, 1993).

Na fase de botão inicia-se o desenvolvimento do dente, no epitélio do esmalte, local onde o desenvolvimento das cúspides se inicia – a produção de dentina inicia-se nas cúspides e continua até toda a dentina coronária estar completa (Nanci, 2014). A dentina radicular é formada um pouco mais tarde e requer a proliferação de células epiteliais (Hertwig's epithelial root sheath) desde a cervical do órgão de esmalte, ao redor da polpa para iniciar a diferenciação dos odontoblastos radiculares. Quando o dente atinge a sua posição funcional, cerca de dois terços da dentina radicular estarão formados. Após a erupção do dente: se este for decíduo, apenas após 18 meses é que a dentina radicular está totalmente formada; se for definitivo, após cerca de dois a três anos – assim, durante esse período de tempo, o ápex encontra-se aberto (Nanci, 2014).

Existem três tipos de dentina: dentina primária, secundária e terciária (figura 5). O dente é formado na maioria por dentina primária (ou dentina circumpulpar, pois este tipo de dentina rodeia a polpa), apresentando uma estrutura tubular e um padrão regular. Este tipo de dentina pode ser diferenciado em dentina circumpulpar ou dentina do manto.

A dentina circumpulpar pode ser dividida em intertubular e peritubular: a dentina intertubular é a substância produzida pelos odontoblastos em maior quantidade durante a dentinogénese e encontra-se perto da zona de mineralização; a dentina peritubular encontra-se em menor volume e é depositada em redor dos túbulos dentinários, distante da junção pré-dentina/dentina (Linde & Goldberg, 1993). A camada exterior de dentina primária, perto do esmalte ou do cimento, difere dos restantes sítios por não ser mineralizada e pela relação entre os componentes de colagénio e não colagénio da matriz –*mantle dentin* (Linde & Goldberg, 1993; Nanci, 2014).

Dentina secundária desenvolve-se após a completa formação da raiz, sendo formada ao longo das paredes de dentina circumpulpar durante o tempo de vida dos odontoblastos (contudo, a um ritmo mais lento que a secreção de dentina primária) (Linde & Goldberg, 1993; Smith *et al.*, 1995; Nanci, 2014). Este tipo de dentina tem uma estrutura tubular menos regular que a dentina primária. A maior deposição de dentina no teto e pavimento da câmara pulpar leva a uma redução assimétrica do tamanho e forma – recessão pulpar – que pode ser detetada histológica e radiograficamente (Nanci, 2014).

A dentina terciária (chamada de reativa ou reparadora) é produzida em reação a estímulos externos, tais como atrição, lesões de cárie, procedimentos restauradores e irritantes químicos ou internos: componentes endógenos tecidulares libertados pela matriz durante processos patológicos (Linde & Goldberg, 1993; Smith *et al.*, 1995; Nanci, 2014). Ao contrário da dentina primária e secundária, que se depositam ao redor da polpa, a dentina terciária é produzida pelas células diretamente afetadas pelos estímulos – dependendo da duração e intensidade destes estímulos, a qualidade e quantidade deste tipo de dentina produzida muda – ou pelos odontoblastos ainda ativos encontrados nos túbulos dentinários que foram estimulados (Murray *et al.*, 2000; Nanci, 2014). Este tipo de dentina varia em forma e aparência, podendo apresentar túbulos contínuos com a dentina secundária, túbulos dispersos ou não apresentar de todo túbulos dentinários (Nanci, 2014).

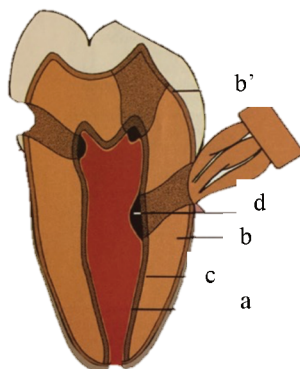


Figura 5. Tipos de dentina e a sua distribuição. Pré-dentina (a) é a primeira camada de dentina depositada, sendo não-mineralizada. Dentina primária (b), nomeada assim por ser o primeiro tipo de tecido dentinário mineralizado. Dentina do manto (b') encontrada perto do esmalte ou do cimento, apresenta-se não mineralizada, sendo um tipo de dentina primária. Dentina secundária (c), desenvolve-se após a completa formação da raiz, sendo secretada pelos odontoblastos durante o seu tempo de vida. Dentina terciária (d) é produzida em reação a estímulos externos, sendo produzida pelas células diretamente afetadas (adaptado de Nanci, 2014).

Dentina reparadora é a matriz de dentina terciária secretada por uma nova geração de *odontoblastos-like cells* em resposta a um determinado estímulo, após a morte de odontoblastos originais responsáveis pela secreção de dentina primária e fisiológica. A dentina reacionária é secretada por odontoblastos pós-mitóticos (figura 6) (Smith *et al.*, 1995).

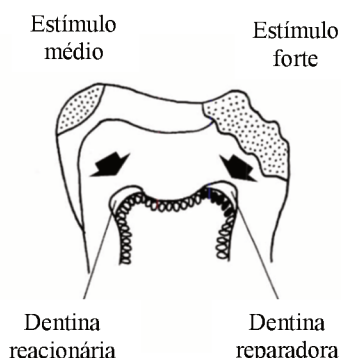


Figura 6. Ilustração esquemática da deposição de dentina reacionária em resposta a estímulos moderados (i.e.: cáries pouco profundas, abrasão/erosão moderadas) e de dentina reparadora em resposta a estímulos severos (i.e.: cáries muito profundas) (adaptado de Smith *et al.*, 1995).

Contudo, o maior obstáculo para a sobrevivência dos odontoblastos não é o resultado direto da interação com os estímulos agressivos mas sim a técnica cirúrgica e os materiais utilizados após estes incidentes (Murray *et al.*, 2000).

Existe ainda a dentina esclerótica, que pode começar a formar-se aos 18 anos nos pré-molares (sem razão aparente), e como resposta fisiológica, sendo que os túbulos dentinários ocluem por contínua deposição de dentina peritubular (Nanci, 2014). Este tipo

de dentina apresenta um aspeto vítreo e torna-se translúcida. Com o envelhecimento, este tipo de dentina aumenta e é mais comum no terço apical da raiz e na coroa (entre a junção amelodentinária e a superfície da polpa) (Nanci, 2014). A esclerose dentinária reduz a permeabilidade na sua camada mais interna e torna-se nula à superfície, tornando-a numa eficaz barreira protetora para o complexo pulpo-dentinário, auxiliando a prolongar a vitalidade pulpar (Nanci, 2014).

Com a formação da matriz orgânica de dentina e a sua consequente mineralização, que seguem um padrão rítmico (períodos de formação de dentina seguidos de períodos de repouso), são formadas linhas incrementais perpendiculares ao longo dos túbulos dentinários denominadas *linhas de von Ebner* (Cavacas, 2014). Outras linhas de padrão incremental são as *linhas de contorno de Owen*, resultantes de distúrbios ou alterações metabólicas ocorridas na dentinogénese (Cavacas, 2014).

Vasos sanguíneos não estão presentes na dentina: as artérias, que penetram pelo ápex do dente, migram coronariamente até ao centro da polpa e dividem-se em artérias terminais que formam uma rede de capilares sob a camada odontoblástica (Linde & Goldberg, 1993). Quanto à inervação, esta é feita por terminações nervosas provenientes da polpa dentária, acompanhando entre 30 a 70% o trajeto dos prolongamentos odontoblásticos ao longo dos túbulos dentinários (Kumar, 2011).

5.3. Polpa

A polpa dentária é a estrutura que ocupa a região central do dente, estando “encapsulada” por dentina e é formada por tecido conjuntivo laxo, vascularizado e innervado. Tem origem na papila dentária, sendo o resultado da diferenciação das células indiferenciadas e fibroblásticas da papila, acompanhando simultaneamente a formação do esmalte e da dentina, a partir da atividade dos odontoblastos (Avery & Chiego, 2006).

Distinguem-se duas porções: a porção coronária e a porção radicular. A porção coronária é mais larga e preenche a área designada por câmara pulpar, sendo a porção da polpa com maior quantidade de células, fibras, vasos sanguíneos e nervos (Avery & Chiego, 2006). A câmara pulpar é unitária e partilhada por todas as porções radiculares da polpa (Nanci, 2012). A configuração pulpar reflete a morfologia anatómica do dente, verificando-se a presença de saliências designadas por cornos pulpares (Cavacas, 2014),

em número semelhante ao das cúspides presentes. A porção radicular estende-se desde a região cervical até ao ápex do canal, estando envolta por tecido calcificado e avascular (Avery & Chiego, 2006). Nos dentes anteriores, a porção radicular é única, enquanto que nos posteriores é múltipla, em concordância com o número de raízes desses dentes (Avery & Chiego, 2006).

Com o envelhecimento do dente, ambas as porções de polpa dentária diminuem de tamanho pela formação contínua de dentina (Avery & Chiego, 2006).

Histologicamente, a polpa pode ser dividida em zonas: central e periférica. Na zona central, a polpa é composta por vasos sanguíneos de grande calibre e troncos nervosos rodeados por fibroblastos e fibras de colagénio embebidas em matriz intracelular (Avery & Chiego, 2006).

Na zona periférica da polpa, juntamente com a dentina que a circunda, encontram-se as células formadoras de dentina: os odontoblastos (Avery & Chiego, 2006).

A arquitetura histológica da polpa é apresentada da seguinte forma (da periferia para o centro): odontoblastos; zona pobre em células ou zona de *Weil* (permite algum movimento aos corpos dos odontoblastos); zona rica em células (predominantemente fibroblastos e células mesenquimatosas indiferenciadas); e “parietal neural plexus” (Kumar, 2011) – que penetram a polpa pelo forâmen apical e prosseguem, ramificando-se, até à câmara pulpar (figura 7) (Nanci, 2012).

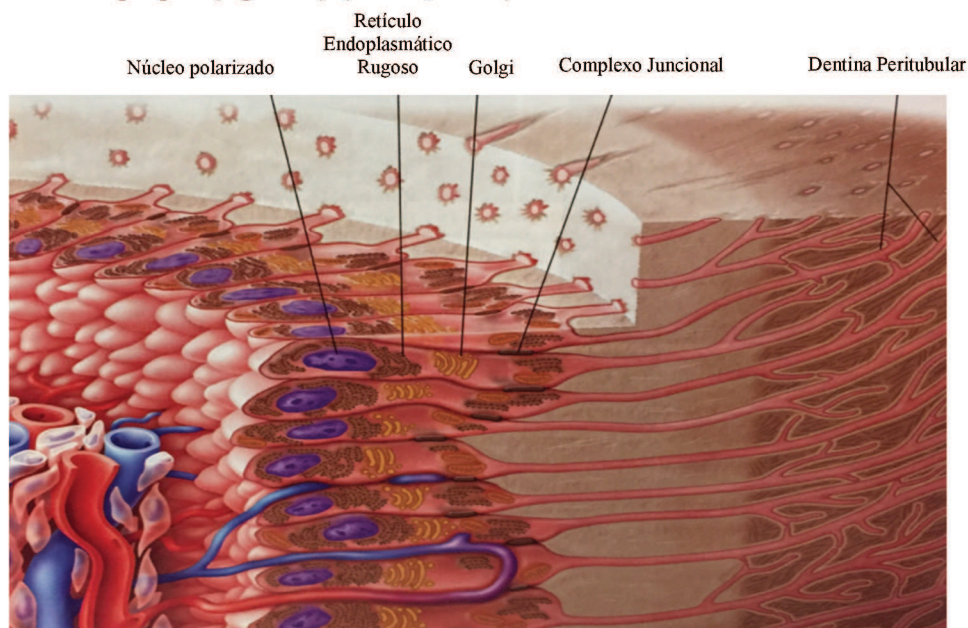


Figura 7. Representação esquemática da arquitetura histológica da polpa (adaptado de Nanci, 2014).

A polpa e a dentina do dente funcionam como uma unidade e os odontoblastos constituem um elemento crucial neste sistema: a formação de dentina depende destas células. Os odontoblastos estão localizadas na periferia do tecido pulpar, apresentando prolongamentos que atingem a junção amelodentinária (Avery & Chiego, 2006).

Os odontoblastos são pequenos e ovais quando se diferenciam, mas rapidamente se tornam colunares. São mais largos na polpa coronária e mais cuboides na polpa radicular (Avery & Chiego, 2006). Próximo ao forâmen apical, os odontoblastos aparecem como uma camada escamosa de células. Devido ao menor número de túbulos de dentina por unidade de área presente na raiz comparativamente à área da coroa do dente, os corpos das células dos odontoblastos são menos apinhados e são capazes de se espalhar lateralmente (Cohen, 2011). Na polpa jovem, que se encontra ativa segregando colagénio, o odontoblasto apresenta o núcleo grandioso na sua porção basal, o complexo de Golgi na porção apical, o retículo endoplasmático rugoso e numerosas mitocôndrias em todo o corpo (Avery & Chiego, 2006).

O prolongamento odontoblástico passa pela pré-dentina (onde se encontram algumas mitocôndrias) e segue pela dentina mineralizada diminuindo o seu tamanho – consequentemente, apresenta menos quantidade de organelos mas contém filamentos e microtúbulos – até atingir a junção amelodentinária (Avery & Chiego, 2006).

Entre odontoblastos adjacentes, existem pequenos espaços de aproximadamente 30 a 40 nm de largura que permitem a comunicação e/ou a oclusividade (Cohen, 2011). Entre odontoblastos adjacentes existem três tipos de complexos juncionais: *tight junctions*, *gap junctions* e junções intermediárias. Os desmossomas (i.e. junções aderentes) possibilitam o funcionamento e a manutenção de uma relação posicional entre as células – prevenindo que substâncias da polpa passem para a dentina (Avery & Chiego, 2006). Os *gap junctions* possibilitam a comunicação dos impulsos elétricos entre odontoblastos e a passagem de pequenas moléculas.

Imediatamente subjacente à camada odontoblástica na polpa coronária, geralmente existe uma zona estreita de aproximadamente 40 µm de largura que é relativamente livre de células, chamada *camada livre de células de Weil* ou *zona de Weil*. Nesta zona encontramos capilares sanguíneos, fibras nervosas não mielinizadas e pequenos processos citoplasmáticos de fibroblastos – mais especificamente o plexo

nervoso de Raschkow e o plexo capilar subodontoblástico. Esta zona encontra-se bem definida na zona coronária e ausente na porção radicular (Cohen, 2011). Os odontoblastos movem-se para esta zona para proteção pulpar aquando do desenvolvimento do dente, tratando-se de uma região pouco perceptível no início da dentinogénese dada a elevada migração de odontoblastos que ocorre nesta altura (Avery & Chiego, 2006).

A zona rica em células, juntamente com a camada nervosa, contém fibroblastos, macrófagos, células dendríticas, células-tronco mesenquimais indiferenciadas, células *Schwann's*, células endoteliais (que fazem parte dos capilares, veias e artérias), linfócitos (relacionados com a função imunológica da polpa) e eritrócitos, leucócitos, eosinófilos e basófilos (Avery & Chiego, 2006).

Com base em evidências obtidas em molares de ratos, foi sugerido que a zona rica em células se forma como resultado da migração periférica das células que povoam as regiões centrais da polpa, começando na época da erupção do dente (Cohen, 2011).

As principais células da polpa são os fibroblastos, os odontoblastos, e as células mesenquimatosas indiferenciadas, estando igualmente presentes macrófagos e linfócitos (Avery & Chiego, 2006).

O tipo de célula mais abundante da polpa é o fibroblasto (Avery & Chiego, 2006; Cohen, 2011; Nanci, 2014). Os fibroblastos apresentam uma morfologia estrelada e extensos prolongamentos, sendo os produtores de uma substância intercelular e de uma matriz de fibras de colagénio. Estas células pulpares são igualmente responsáveis pelo ciclo de *turn-over* do colagénio, ao ingerirem e degradarem as fibras envelhecidas (Avery & Chiego, 2006). O colagénio tipo I e III constituem os principais subtipos da polpa: o tipo I é sintetizado por odontoblastos e osteoblastos, encontrando-se na pele, nos tendões, nos ossos, na dentina e na polpa; o tipo III é sintetizado pelos fibroblastos, encontrando a maioria nos tecidos conjuntivos não calcificados, sendo uma forma fetal encontrada na papila dentária e na polpa madura (Avery & Chiego, 2006; Cohen, 2011).

Numa polpa jovem, as fibras de colagénio encontram-se relativamente dispersas e o tecido aparenta ser delicado. Numa polpa envelhecida, existe maior quantidade de colagénio, sendo que estas fibras se encontram difusas. Contudo, se a polpa se encontrar sob pressão de um agente externo, vai ocorrer uma rápida acumulação de fibras de colagénio (Avery & Chiego, 2006).

Os odontoblastos são o segundo tipo celular em maior quantidade na polpa, sendo responsáveis pela formação e manutenção da dentina primária e secundária, organizando e regulando a síntese da matriz de dentina mineralizada (Murray *et al.*, 2000). A formação de dentina terciária, ao longo da vida, vai ser responsável pela redução do volume pulpar (Avery & Chiego, 2006).

Quanto às células inflamatórias, encontramos na polpa principalmente os macrófagos e linfócitos. Os macrófagos são monócitos que deixaram a corrente sanguínea, penetraram nos tecidos e se diferenciaram em várias subpopulações. A maior parte dos macrófagos é bem ativa em endocitoses e fagocitoses – tratando da manutenção pulpar. A restante participa nas reações imunológicas (Cohen, 2011). Estas células têm uma participação ativa nas vias de sinalização da polpa, juntamente com os fibroblastos (Cohen, 2011).

Os linfócitos encontram-se maioritariamente presentes como linfócitos T – apenas uma reduzida quantidade de linfócitos B e eosinófilos (Nanci, 2012).

Outro tipo de componente celular presente na polpa são as células dendríticas, células acessórias do sistema imunológico. Estas células são caracterizadas por apresentarem dendrites e pela presença de complexos MHC classe II de células à superfície, o que nos indica que se tratam de células de apresentação de antígenos. Na polpa normal, as células dendríticas encontram-se principalmente na periferia da polpa coronal, próximo da pré-dentina, migrando para o centro aquando da presença de antígenos (Cohen, 2011).

A presença de macrófagos, células dendríticas e linfócitos T indica que a polpa está equipada para iniciar respostas imunológicas. Linfócitos B são escassamente encontrados na polpa normal (Cohen, 2011).

Os mastócitos são largamente distribuídos em tecidos conjuntivos, porém, no tecido da polpa normal são raramente encontrados – o contrário acontece quando estamos perante uma polpa com inflamação crónica. Portanto, este tipo de células está intimamente ligado com a inflamação: os seus grânulos contêm heparina (anticoagulante) e histamina (mediador inflamatório importante), entre muitos outros fatores químicos que auxiliam o tratamento da inflamação (Cohen, 2011).

As células estaminais também são encontradas na polpa, sendo células pluripotentes com capacidade de auto-renovação, podendo diferenciar-se em odontoblastos, osteoblastos, condrócitos, adipócitos ou neurónios. Quando o dente é exposto a um estímulo agressor, a morte dos odontoblastos leva à migração destas células para o local da lesão, onde produzem dentina (Nanci, 2012).

O órgão pulpar é altamente vascularizado, com vasos que provêm da artéria maxilar até às artérias alveolar superior e inferior. A corrente sanguínea na polpa é mais rápida que noutras regiões do corpo, e a pressão é igualmente alta. O diâmetro das artérias varia de 50 a 100µm (Avery & Chiego, 2006). Os capilares são compostos por células endoteliais, que formam uma rede juntamente com os odontoblastos. Encontram-se na polpa vasos linfáticos que são de parede fina, forma irregular, mais espessos que os capilares e apresentam uma lâmina incompleta a suportar a camada íntima e média. Os capilares pulpares são fenestrados, que é de extrema importância para a difusão dos precursores e outros nutrientes na proximidade da membrana baso-lateral plasmática dos odontoblastos (Linde & Goldberg, 1993).

O complexo nervoso pulpo-dentinário, denominado de *Raschkow*, que se localiza na zona basal de *Weil*, apresenta nervos originários do gânglio trigeminal, distinguindo-se dois tipos de nervos sensoriais, os nervos mielinizados (fibras A), e os não-mielinizados (fibras C). As fibras A localizam-se na periferia da polpa e inervam os túbulos dentinários (sendo que são estimuladas pelo movimento do fluido dentinário). 90% destas fibras são do tipo A-delta, e a dor apresentada é aguda. As fibras C estão localizadas na porção profunda da polpa, distinguindo-se por caracterizar uma dor do tipo queimadura, menos tolerável que a dor sentida pelas fibras A-delta (Cohen, 2011). Desta rede, os nervos passam pela zona odontogénica e terminam juntamente com os odontoblastos ou até nos prolongamentos odontoblásticos que se encontram dentro dos túbulos dentinários – estas terminações nervosas nos túbulos dentinários estão intimamente relacionadas com a dor (Avery & Chiego, 2006).

A enervação da polpa está sob controlo de nervos simpáticos, tanto no desenvolvimento como no envelhecimento dentário. Estes nervos simpáticos pós-ganglionares vão inervar os dentes e estruturas de suporte através dos nervos maxilar e mandibular, que são por sua vez ramos do nervo trigémeo (Linde & Goldberg, 1993).

Os nervos do plexo subodontoblástico de *Raschkow* apresentam o seu percurso desde a camada parietal, através da zona odontogénica, terminando ao longo dos odontoblastos, ou penetrando nos túbulos juntamente com os prolongamentos dentinários (Avery & Chiego, 2006; Nanci, 2012)

A polpa é altamente sensível às mudanças de temperatura, estimulações elétricas e químicas e à pressão (Avery & Chiego, 2006).

As terminações nervosas encontram-se nos túbulos dentinários e a polpa pode-se encontrar a alguma distância do local onde a dor é perceptível: na junção amelodentinária. Existem várias teorias explicativas deste fenómeno:

- A. Teoria da Inervação Direta: baseia-se na crença de que os nervos se estendem até à junção amelodentinária. Contudo, estudos têm demonstrado a ausência de nervos nessa junção.
- B. Teoria da Transdução: o prolongamento odontoblástico é o recetor e todo o odontoblasto trata de conduzir essa informação até às terminações nervosas na polpa da periferia.
- C. Teoria Hidrodinâmica: desenvolvida para explicar a transmissão da dor através da espessura muito fina da dentina. É baseada na premissa de que quando a dentina é estimulada, o fluído dentinário e o processo odontoblástico movimentam-se para do interior dos túbulos, entrando em contacto com as terminações nervosas, gerando-se um impulso. Esta é a teoria mais aceite na atualidade.

A polpa apresenta inúmeras funções, sendo que, com a ajuda de células, vasos sanguíneos e nervos, o principal objetivo é fornecer vitalidade ao dente (Avery & Chiego, 2006).

As funções da polpa são cinco – indutora, formadora, sensorial, reparadora/protetora e nutritiva:

- a) Indutora – a interação com os tecidos circundantes durante o desenvolvimento da futura polpa vai induzir o início da odontogénese;
- b) Formadora – os odontoblastos do complexo pulpar produzem dentina, que por sua vez rodeia e protege o tecido pulpar;
- c) Sensorial - a polpa transmite a perceção de estímulos do esmalte e dentina, como temperatura, pressão, ou trauma, que desencadeiam uma sensação dolorosa;

- d) Reparadora/Protetora – formação de dentina terciária pelos odontoblastos, como resposta a estímulos agressivos, ou de dentina esclerótica, em caso de obliteração dos túbulos dentinários, por forma a proteger a vitalidade do dente;
- e) Nutritiva – a polpa é responsável pela nutrição dos tecidos mineralizados que a envolvem (esmalte e dentina), já que estes são avasculares (Avery & Chiego, 2006).

Muitas das mudanças que ocorrem na polpa advêm de estímulos ambientais e do envelhecimento dentário. Com o avançar dos anos, a polpa diminui o seu tamanho devido à contínua deposição uniforme de dentina, ao redor de todo o perímetro da polpa. Para além desse fator, ocorre uma geral diminuição do número de células pulpares, tal como o citoplasma e os organelos de cada célula: mitocôndrias e retículo endoplasmático, demonstrando-se assim que a atividade celular é reduzida. Com a idade, a habilidade da polpa em responder a estímulos e em reparar lesões, diminui. Contudo, quando ocorre uma lesão provocada por um estímulo, a deposição de dentina aparenta ter uma localização específica (Avery & Chiego, 2006).

5.4. Odontoblastos

Os odontoblastos são responsáveis pela formação e manutenção da dentina primária e secundária, uma vez que organizam e regulam a síntese da matriz de dentina mineralizada (Murray *et al.*, 2000). Estas células estão organizadas como uma única camada de células polarizadas em paliçada especializadas que se encontram alongadas entre a polpa dentária e a dentina, responsáveis pela formação da dentina e pela transmissão da dor dentária (Magloire *et al.*, 2009).

Os odontoblastos diferenciam-se das células ectomesenquimais embrionárias derivadas da crista neural durante os eventos iniciais de desenvolvimento dentário. Os seus prolongamentos atravessam a pré-dentina e dentina, e formam a camada odontoblástica da polpa. Esta camada constitui uma barreira fisiológica, separando os tecidos mineralizados (esmalte e dentina) do tecido vivo do dente (polpa dentária) (Nanci, 2012).

O ciclo de vida dos odontoblastos pode ser dividido em três grandes estádios: fase secretora, fase madura e fase idosa/envelhecida (figura 8). Na fase secretora do odontoblasto observamos uma robustez morfológica e organelos proeminentes, num

período de alto metabolismo e secreção; em oposição, com a fase de maturação, observa-se no odontoblasto uma progressiva diminuição dos organelos, com uma crescente acumulação de vacúolos e uma diminuição do tamanho celular.

O último estádio do ciclo de vida destas células é representado pelos odontoblastos envelhecidos. Ocorre uma crescente acumulação de lipofusina como resultado da autofagia mitocondrial, o que pode explicar a decadência funcional do odontoblasto com a progressão da idade do indivíduo. A presença de vacúolos grandes é característica deste estádio (Couve *et al.*, 2012).

A dimensão dos odontoblastos coronários é comparativamente superior à dos odontoblastos radiculares (Avery & Chiego, 2006; Nanci, 2012).

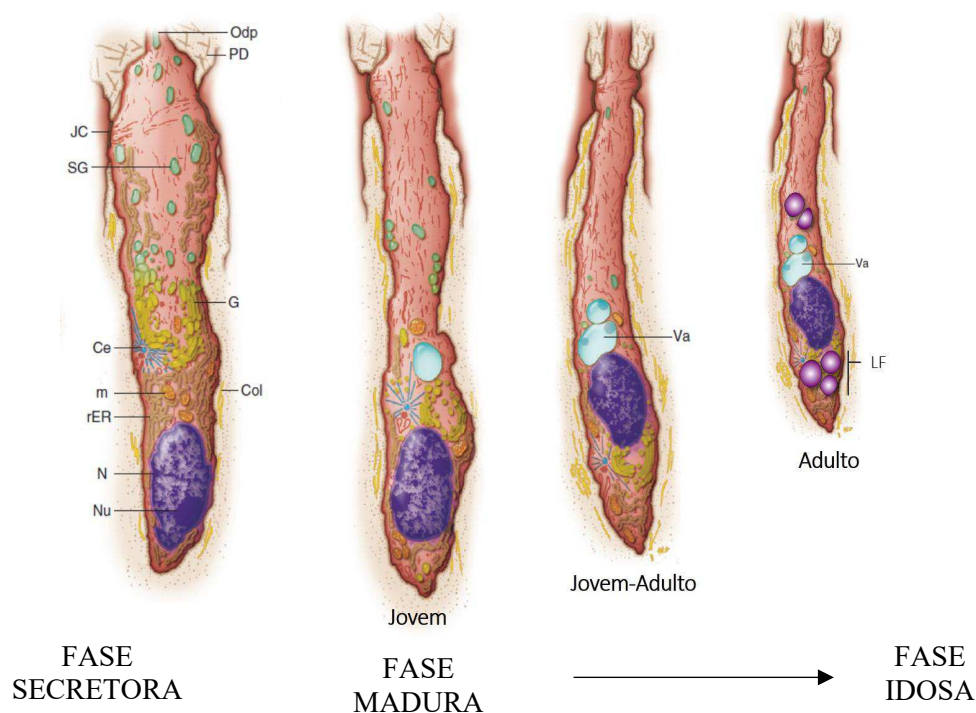


Figura 8. Diagrama representativo das várias estágios funcionais do odontoblasto. BM: membrana basal; Ce: centríolo; Col: colagénio; G: Complexo de Golgi; IEE: epitélio esmalte interno; JC: complexo juncional; m: mitocôndria; N: núcleo; Nu: nucléolo; processo odontoblástico; PD: pré-dentina; rER: retículo endoplasmático rugoso; SG: grânulo de secreção; Va: vacúolo (adaptado de Couve *et al.*, 2013).

Durante o desenvolvimento do dente, o odontoblasto está sob controlo de interações célula-célula e célula-matriz, pelas *tight junctions*, *gap junctions* e junções intermediárias (onde a sinalização molecular se encontra fortemente envolvida – componentes de matriz extracelular e fatores de crescimento). Além da função primordialmente secretora, os odontoblastos também participam na transmissão de

estímulos sensoriais, uma vez que expressam canais iônicos relacionados com nocicepção e propagação de sinais, assim como transdução de estímulos químicos, térmicos e mecânicos (Magloire *et al.*, 2003).

Atualmente, pensa-se que o cílio primário atua como um recetor de sinalização trópica, podendo estar relacionado com a formação de dentina, transmissão sensorial do dente, regulação do fluido dentinário e ainda com o movimento do odontoblasto na polpa (Magloire *et al.*, 2003).

Enquanto a dentinogénese se processa, as extensões odontoblásticas são incluídas na matriz calcificada formando o túbulos dentinários, enquanto os corpos celulares estão embebidos no tecido pulpar (Magloire *et al.*, 2009). Após todo o processo de formação de dentina primária, os odontoblastos continuam a secretar dentina circumpulpar a um ritmo lento (modelados pela abrasão oclusal) e, graças a esta capacidade, estas células apresentam uma situação espacial única (Baume, 1980).

O odontoblasto é constituído pelo corpo e pelo prolongamento. No corpo odontoblástico, podemos delimitar três zonas: zona proximal ou basal, o núcleo e partes laterais nas quais se encontra um retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvido (Linde & Goldberg, 1993).

No início, o odontoblasto manifesta diversos prolongamentos, mas com o seu desenvolvimento apenas um se desenvolve como principal. Assim, surge o prolongamento odontoblástico, que constitui o pólo secretor do odontoblasto, estendendo-se desde o corpo celular. Quando o prolongamento está formado, inicia-se a produção de dentina circumpulpar, e à medida que esta é depositada, o corpo celular desloca-se no sentido pulpar e o prolongamento alonga-se. Este é mais espesso na pré-dentina e vai-se estreitando à medida que progride pelo túbulo dentinário, podendo estender-se até à junção amelodentinária. A partir do prolongamento odontoblástico surgem pequenas ramificações perpendiculares à dentina intertubular, que podem apresentar conexões intercelulares na dentina (Nanci, 2012).

Os túbulos dentinários, que se estendem entre o esmalte e a dentina até à camada odontoblástica, contêm processos celulares banhados no fluido dentinário. Consequentemente, os odontoblastos podem agir como uma barreira seletiva que controla a relação entre a dentina e a polpa, e vice-versa, dependendo de condições fisiológicas e patológicas (Magloire *et al.*, 2009).

Este tipo celular que faz parte da constituição pulpar é considerada uma célula mecano-sensorial. Uma densa rede de fibras nervosas sensitivas não mielinizadas circunda os corpos e processos celulares. Assim, nos túbulos dentinários, quando sujeitos a estímulos externos, o fluido destes sofre movimentos que causam uma resposta do complexo odontoblasto/ nervos, apresentando assim um sistema mecano-sensorial único, conferindo às células formadoras de dentina um papel central na transdução de sinal (Magloire *et al.*, 2009).

Assim, os odontoblastos são considerados como uma célula única: a nível funcional que tanto é altamente especializada para a síntese e secreção de dentina, como uma célula mecano-sensorial que inicia, por movimentos do fluido dentinário, a transmissão da dor (Magloire *et al.*, 2009). Os odontoblastos originários da diferenciação neural podem apresentar uma longa vida, desde que a integridade do dente seja preservada (Couve, 1986). Contudo, é evidente que novos odontoblastos participam em processos de reparação da polpa (Nanci, 2014). Assim, a capacidade intrínseca da polpa dentária de reparar dentina danificada e de aumentar a barreira entre esta e o estímulo é dependente da vitalidade da camada de odontoblastos (Smith *et al.*, 1995).

5.5. Dinâmica do complexo pulpo-dentinário

O complexo pulpo-dentinário reflete uma relação de simbiose notável, isto porque a dentina e a polpa são dois tecidos intimamente relacionados, do ponto de vista morfológico, funcional e embriológico. A polpa mantém a vitalidade da dentina e, por sua vez, a dentina protege reciprocamente a integridade da polpa (Nanci, 2012).

Assim, torna-se indispensável entender as transformações celulares e tecidulares deste complexo em situações como: envelhecimento, lesões de cárie, efeito da preparação cavitária num tratamento restaurador, efeitos das técnicas de adesão e desgaste dentário.

5.6. Envelhecimento dentário

O complexo pulpo-dentinário sofre alterações com o decorrer do tempo, tal como os demais tecidos corporais. Apesar do ciclo de vida dos odontoblastos não estar bem esclarecido, o envelhecimento do dente pode estar associado a mudanças fisiológicas que ocorrem com o passar do tempo ou a influências ambientais (Murray *et al.*, 2002).

Especificamente na polpa dentária, as alterações consequentes do envelhecimento incluem, entre outras: uma redução da câmara pulpar por contínua formação de dentina, a obliteração do canal pulpar, que pode resultar na redução da vascularização, as mudanças estruturais nos capilares sanguíneos, a presença de feixes fibrosos resultantes de uma mudança na distribuição das fibras de colagénio e a redução da densidade celular pulpar (Daud *et al.*, 2014; Nanci, 2014).

Na dentina, observa-se com o envelhecimento o encerramento completo dos túbulos e a formação de dentina esclerótica, diminuindo a permeabilidade da dentina e tornando-a mais quebradiça (Nanci, 2014).

Em relação ao esmalte, este tecido é não-vital pelo que é incapacitado de regeneração. Com o avançar do tempo, o esmalte sofre, progressivamente, desgaste nas regiões de atrição: facetas de desgaste são altamente pronunciadas em pessoas idosas. A descoloração, redução de permeabilidade e modificações nos constituintes da camada superficial são igualmente características do envelhecimento no esmalte (Nanci, 2014).

Em dentes humanos saudáveis, o tempo de vida do odontoblasto depende do *turn-over* do organelo por auto-fagocitose e está associado a uma diminuição da atividade secretória de dentina – que, consequentemente, reduz a resposta funcional a estímulos exógenos como cáries, atrição, abrasão, erosão, dano tecidular e trauma (Murray *et al.*, 2002).

Segundo Daud *et al.* (2014), com o envelhecimento ocorrem mudanças na morfologia das células pulpares. A partir dos 20 anos, há uma diminuição gradual da densidade celular dos odontoblastos, células subodontoblásticas e fibroblastos pulpares em cerca de 60% até aos 60-80 anos.

Dependendo do grau de lesão dentária, os odontoblastos podem morrer e outras células pulpares indiferenciadas – tais como os sub-odontoblastos que posteriormente se diferenciam em *odontoblastos-like cells* – podem aparecer contribuindo no processo de reparação. Os fibroblastos são responsáveis pelo *turn-over* da matriz extracelular e participam na reparação dentária, proporcionando a cicatrização do tecido dentário (figura 9) (Daud *et al.*, 2014).

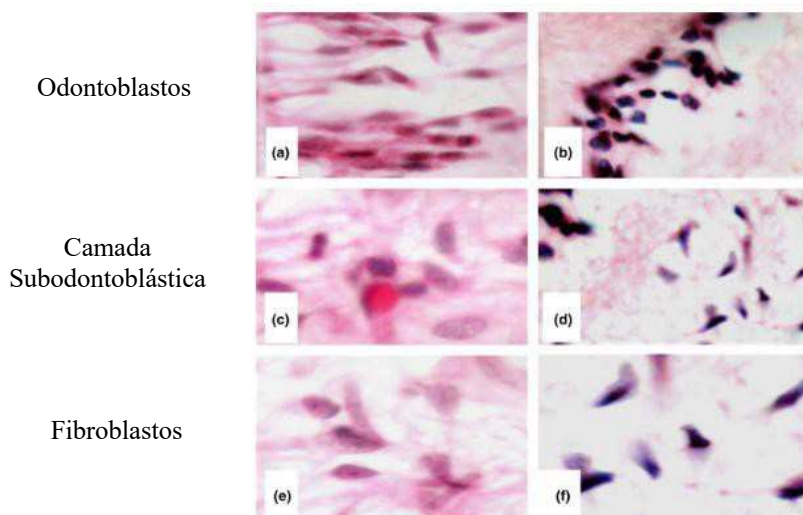


Figura 9. Imagens de microscópio ótico demonstram mudanças histomorfológicas dos odontoblastos, camada subodontoblástica e fibroblastos representativos de 2 grupos de faixas etárias: 6-29 anos (a, c, e) e 50-80 anos (b, d e f) (adaptado de Daud *et al.*, 2014).

Segundo Couve, Osório e Schmachtenber (2012), as mitocôndrias e os lisossomas têm sido descritos como os organelos mais relevantes nas mudanças relacionadas com o envelhecimento dos odontoblastos. O *turn-over* dos componentes das mitocôndrias por fagocitose implica a acumulação irreversível de depósitos de lipofuscina nos vacúolos. Esta acumulação pode explicar a redução progressiva da manutenção da dentina, que é observada com a idade e a vulnerabilidade do odontoblasto sob condições de stress, que aumenta com a idade do dente. A atividade fagocitária sobre as mitocôndrias é mais comum em odontoblastos jovens-adultos do que em odontoblastos adultos.

Outras alterações pulpares decorrentes do envelhecimento surgem, nomeadamente: a diminuição de colagénio, que conduz ao aparecimento de feixes fibróticos; a degeneração de axónios mielinizados e não-mielinizados que, associada ao aumento de dentina esclerótica e dentina reparadora, e à diminuição do volume pulpar, justifica o decréscimo da sensibilidade ao longo da vida; e o aparecimento de zonas de calcificação distrófica irregulares, principalmente no centro pulpar (Nanci, 2012).

O envelhecimento dentário leva a uma redução da densidade pulpar dentária e a mudanças na morfologia celular que, consequentemente, levam ao comprometimento da capacidade reparadora da polpa aquando de uma lesão. Contudo, este decréscimo da densidade celular não é homogêneo nas diferentes regiões da polpa: na região radicular, a densidade celular é menor em comparação com a da região coronária (Murray *et al.*, 2002; Daud *et al.*, 2014). Consequentemente, como afirmou Murray *et al.* (2002), “o

envelhecimento afeta as atividades fisiológicas e funcionais dos odontoblastos, resultando numa menor capacidade de responder às agressões e redução da aposição e mineralização de dentina”.

5.7. Sistema Estomatognático do rato *Wistar*

Inúmeros investigadores, tais como Schour e Van Dyke (1934) e Pinzon *et al.* (1967), têm descrito semelhanças morfométricas entre a dentição de ratos e a de humanos; estes são histológica e fisiologicamente semelhantes, bem como em forma e função. Os dentes destes roedores têm sido utilizados para avaliar inúmeros medicamentos e condições experimentais, incluindo respostas pulpares a estímulos agressivos (Smith *et al.*, 2002).

Os roedores apresentam uma dentição única e específica, e uma musculatura altamente complexa na mandíbula (Cox *et al.*, 2011).

A arcada dentária do rato *Wistar* é constituída por 2 longos incisivos centrais e por seis molares, sendo que estes dentes são de tamanho mais reduzido que os incisivos. Assim, no total, a sua dentição é composta por 16 dentes: 2(I 1/1, C 0/0, Pm 0/0, M 3/3) = 16 (Hofstetter *et al.*, 2006).

Os incisivos apresentam um crescimento contínuo e a cavidade pulpar aberta. Não existem caninos nem pré-molares, contudo, a zona onde os caninos deveriam de estar, é chamada de diastema (Hofstetter *et al.*, 2006; Cox *et al.*, 2011). A sua aparência é afiada, sendo constituídos por esmalte na porção vestibular e dentina na porção lingual, gerando uma diferença de atrito das superfícies externa e interna (Cox *et al.*, 2012).

Quando os molares se encontram em oclusão, os incisivos não contactam, e vice-versa, razão pela qual os dois tipos de alimentação se tornam atividades exclusivas, levando a mandíbula a ser movida anteriormente e posteriormente em relação ao crânio (movimento propalinal), para realizar as duas tarefas (Hiiemae & Ardran, 1968).

O masséter é o músculo dominante, formando 60% a 80% da musculatura mastigatória, e é dividido em três camadas: masséter superficial, masséter profundo e masséter médio (ou zigomático-mandibular) (Cox *et al.*, 2012).

Anatomicamente, a articulação temporo-mandibular do rato *Wistar* é semelhante à ATM do humano: em ambos é uma diartrose com menisco. Contudo, é importante

realçar as diferenças existentes: o tamanho da articulação do rato *Wistar* é muito menor do que a do humano, a posição dos côndilos é divergente no rato *Wistar* e a forma do ângulo da mandíbula é diferente sendo que a mandíbula dos ratos é mais proeminente. A principal diferença entre estes é que não existe eminência articular no rato *Wistar* pelo que o movimento da mandíbula se encontra altamente especializado para movimentos protrusivos extensos (Porto *et al.*, 2010).

A espessura da dentina no incisivo de rato é $< 2 \mu\text{m}$, enquanto que nos humanos é de 5 a 30 μm . No incisivo de rato que se encontra em contínua erupção, apenas se observa dentina intertubular. Nos dentes deste roedor, os odontoblastos produzem ativamente pré-dentina e dentina, contudo, com o aumento da idade, estas células envelhecem e degeneram-se em cerca de 2 meses (Linde & Goldberg, 1993).

Smith *et al.* (2002) – utilizando incisivos de rato *Wistar* - demonstraram que, com o envelhecimento do dente, há uma redução da densidade celular dos odontoblastos, subodontoblastos e fibroblastos. Os fibroblastos são o tipo celular que menos é afetado, em termos da densidade celular pulpar. Por outro lado, a redução da densidade celular dos subodontoblastos e odontoblastos pode ser explicada pela diminuição da secreção de dentina secundária e da atividade reparadora da polpa.

6. Ruído Industrial e Stress

O *stress* é provocado por inúmeras condições, e o ruído industrial é um importante agente desencadeador e potenciador deste (Cavacas, 2014).

Os organismos vivos sobrevivem pela capacidade de manter um harmonioso equilíbrio (homeostasia), imensamente complexo e dinâmico, que é constantemente contrariado e posto em causa por fatores de distúrbio intrínsecos e/ou extrínsecos – fatores de *stress*. Este estado de homeostasia é mantido por forças opostas de restabelecimento, ou respostas adaptacionais que consistem num extraordinário repertório de reações físicas e psicológicas, contrariando assim os efeitos dos fatores de *stress* (Castro & Santos, 1998).

Segundo Castro e Santos (1998), *stress* é “a condição que resulta quando as interações pessoa/meio ambiente levam o indivíduo a perceber e a sentir uma discrepância, que pode ser real ou não, entre as exigências de uma determinada situação

e os recursos do indivíduo, ao nível biológico, psicológico ou de sistemas sociais”. Assim, o RBF é um *stressor* pois apresenta-se como um estímulo que ameaça o organismo, desencadeando um padrão de respostas físicas que o corpo utiliza para evitar ou escapar da condição avaliada como adversa (Gazzaniga e Heatherton, 2007).

A etiologia do *stress* pode ser agrupado em três grupos: *stress* cataclísmico, pessoal e *stress* de fundo. Este último, engloba eventos persistentes, que se podem tornar elementos de rotina de vida. O ruído de baixa frequência constante foi classificado como *stress* de fundo (Leventhall, 2004).

O ruído industrial é considerado um fator de *stress* que implica inúmeras alterações no corpo humano, sendo que o efeito primário do ruído aparenta ser irritação. A diminuição do nível de limiar de audição, dor de ouvido, alteração do equilíbrio, alteração do ritmo cardíaco e frequência respiratória, mudanças sanguíneas e endócrinas e distúrbios no sistema nervoso central são algumas das mudanças fisiológicas que ocorrem pela ação do ruído industrial (Broner, 1978).

O sistema nervoso autónomo (SNA) e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) são os responsáveis pelas respostas ao *stress*, com ações que são completadas através de todo o organismo (Zuardi, 2009).

O *stress* excessivo resulta numa hiperatividade dos músculos mastigatórios, que se manifestam nas atividades parafuncionais, em particular no ranger dos dentes – bruxismo. Para além disso, mudanças no comportamento também podem ocorrer aquando da exposição ao RBF.

7. Hábitos Parafuncionais

Comportamentos orais que não servem as funções comuns de deglutição, fonação e mastigação são denominados de hábitos parafuncionais. Dependendo da frequência, intensidade e duração, eles podem tornar-se muito destrutivos em termos psicológicos, físicos, emocionais e/ou sociais (Molina *et al.*, 2016).

Hábitos parafuncionais afetam as estruturas dento-alveolares e, se forem diagnosticados tardiamente e se o tratamento for adiado, podem desenvolver-se em problemas severos que podem ser irreversíveis (Hashemipour *et al.*, 2018).

Os hábitos parafuncionais têm sido descritos como processos autodestrutivos causados pelo *stress*. O bruxismo é o hábito parafuncional mais frequentemente implicado nas alterações por desgaste dos componentes dentários (Cavacas 2014, 2015).

O bruxismo é definido como uma atividade parafuncional diurna ou noturna, que inclui apertar e ranger os dentes (Lavigne *et al.*, 2008). A sua etiologia é multifatorial, dependendo de fatores psicológicos e dentários. Este hábito caracteriza-se por uma atividade rítmica dos músculos temporomandibulares que causa contactos forçados entre as faces oclusais dos dentes (Cavacas, 2014; 2015).

O bruxismo apresenta inúmeras consequências, que não são limitadas a problemas nos dentes ou nos músculos (Cavacas *et al.*, 2015). Rosales (2002) demonstra que, em ratos que foram submetidos experimentalmente a *stress*, verificaram-se mais sintomas como os de bruxismo, em comparação com os de controlo. As consequências do bruxismo crónico são diversas, desde dor a nível da articulação temporo-mandibular, perturbação do sono, sensibilidade dentária e desgaste de esmalte dentário.

8. Desgaste dentário

O desgaste dentário é um processo multifatorial complexo que envolve a perda irreversível de tecido dentário duro, especificamente esmalte e dentina (Cavacas *et al.*, 2015). Este processo é o resultado de três fenómenos: abrasão (desgaste provocado pela interação entre dentes e outros materiais), atrito (desgaste por contacto dente-dente) e erosão (dissolução de tecido duro por substâncias com pH baixo – ácidas). Estes mecanismos raramente atuam por si só, interagindo uns com os outros. A abfração (lesão cervical não cariosa) também tem de ser tida em conta pois pode potencializar o desgaste por abrasão e/ou erosão (Addy, 2006).

A prevalência do desgaste dentária, como sinal normal de envelhecimento, aumentou, isto porque a esperança média de vida da população é maior hoje em dia: as pessoas e os profissionais de saúde optam por manter os dentes naturais na cavidade oral durante mais tempo, ao contrário do que acontecia nas gerações passadas (Cavacas *et al.*, 2015).

As causas mecânicas e os hábitos parafuncionais (como o bruxismo) são os fatores mais comumente relatados associados ao desgaste dentário. Os fatores mecânicos englobam: a abrasão pela pasta de dentes, fricção lingual, atrição, regurgitação crónica que causa erosão dentária, entre outros. O bruxismo também pode causar danos severos

ao esmalte e à dentina, tal como à ATM. A associação do bruxismo com a abrasão é a causa mais comum de desgaste dentário (Cavacas *et al.*, 2015).

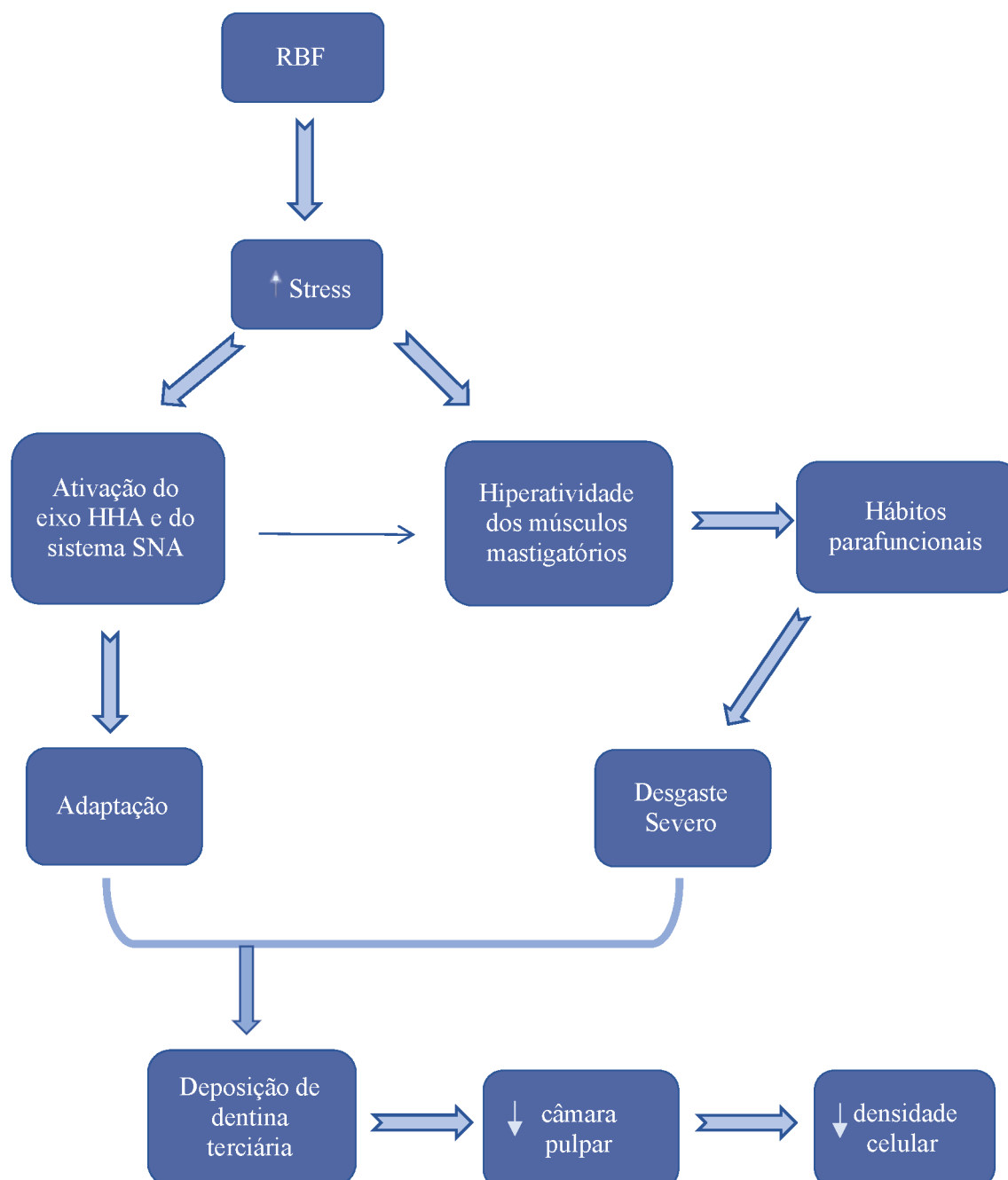
Os hábitos parafuncionais têm sido reportados como processos auto-destrutivos causados pelo *stress*: *stress* excessivo resulta em hiperatividade dos músculos mastigatórios, que se manifesta, particularmente, como bruxismo (Cavacas *et al.*, 2015).

Segundo Cavacas *et al.* (2013), “o *stress* e a ansiedade são “fortes” estímulos relacionados com bruxismo. Sabe-se que a exposição ao RBF aumenta o *stress*, levando ao aumento do desgaste dentário”. Nesse mesmo estudo, os autores relataram a presença de uma “banda mineralizada entre a dentina e a polpa” nos animais submetidos ao ruído, enquanto que no grupo de controlo, não foram observadas essas bandas. Nos animais submetidos ao ruído, foi observado que as fibras de colagénio ficaram aprisionadas pela matriz mineralizada recém-formada, constituindo uma banda mais carbonatada que a dentina, verificando-se ao mesmo tempo uma estrutura da malha de colagénio mais espaçada e desorganizada. Estas alterações podem estar relacionadas com o impacto direto da pressão sonora ou com uma resposta adaptativa do complexo pulpo-dentinário devido ao ranger dos dentes.

Kovacevic e Belojevic (2006) demonstraram que a exposição de indivíduos a um alto nível de ruído industrial está significativamente relacionado com o aparecimento de lesões de abrasão dentária. Este processo pode resultar da repetição da contração muscular mastigatória e das atividades parafuncionais em ambientes de ruído.

Assim, o ruído industrial tem capacidade para envelhecer precocemente o dente, principalmente pela vibração que este causa nas estruturas dentárias, e pelo aumento do *stress* que indiretamente acelera o desgaste dentária (Cavacas *et al.*, 2013).

Tabela 1. Fluxograma representativo da sequência de eventos desencadeados pelo ruído industrial. O ruído industrial provoca um aumento do stress que, por sua vez, leva à ativação do eixo HHA e do sistema SNA, como também desencadeia uma hiperatividade muscular. Esta hiperatividade é causa do aparecimento de hábitos parafuncionais que levam ao desgaste severo. A ativação do eixo HHA gera uma adaptação que, juntamente com o aparecimento de desgaste dentário severo, estimulam os odontoblastos a secretarem dentina terciária, causando assim uma diminuição da câmara pulpar e consequentemente a diminuição da densidade celular e o seu rearranjo morfológico (adaptado de Cavacas, 2014).



II. Objetivos e Hipóteses

Este trabalho tem como objetivo a comparação entre a densidade celular pulpar de dentes submetidos ao ruído industrial e a densidade celular pulpar de dentes não submetidos a ruído.

As hipóteses de estudo são:

- Hipótese nula (**H₀**): não existem diferenças na densidade celular pulpar dos dentes submetidos a ruído industrial;
- Hipótese alternativa (**H₁**): existem diferenças na densidade celular pulpar nos dentes submetidos a ruído industrial.

III. Materiais e Métodos

1. Materiais e Métodos

O estudo foi conduzido seguindo os materiais utilizados nos estudos de Cavacas (2014; 2015).

1.1. Modelo Animal

40 ratos *Wistar* foram selecionados, com igual número de machos e fêmeas. De seguida, foram expostos ao ruído industrial: durante 1 a 7 meses, em diferentes períodos de tempo, de forma a simular o horário laboral normal (8 horas/dia, 5 dias/semana, com os fins-de-semana em silêncio). Posteriormente, 10 desses 40 ratos foram considerados controlo e os outros 30 ratos foram divididos em três grupos de 10 animais, cada um destes sacrificado após 1, 4 e 7 meses (Cavacas, 2014).

Tabela 2. Tempo de exposição total ao RBF para cada grupo (em horas) (adaptado de Cavacas, 2014).

Grupo	Número de animais	Horas de exposição ao ruído industrial
<i>Controlo</i>	10	0 horas
<i>1 mês</i>	10	160 horas
<i>4 meses</i>	10	640 horas
<i>7 meses</i>	10	1120 horas

1.2. Exposição ao RBF

O ruído de uma fábrica têxtil do norte de Portugal foi usado para simular o ambiente ocupacional a que os operários estão submetidos. O ruído presente no local de trabalho foi gravado e reproduzido usando um conjunto eletroacústico baseado num sistema de computador. O espectro de frequências e intensidades está documentado no gráfico da figura 10 (Cavacas, 2014).

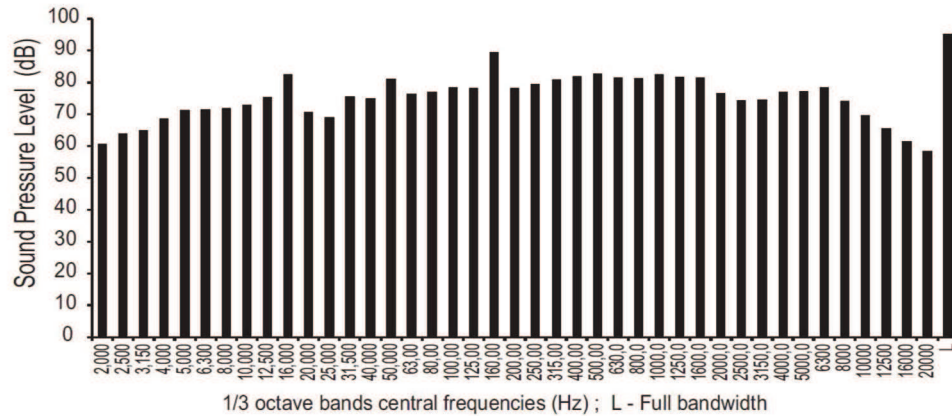


Figura 10. Espectro de distribuição das frequências e intensidades gravadas e reproduzidas no ambiente ao qual os animais foram expostos (adaptado de Cavacas, 2014).

1.3. Modelo Histológico

Posteriormente à exposição dos 30 ratos ao RBF, foram selecionados dentes para extração e preparados cortes histológicos. Estes foram fixados em formol tamponado a 10% para observação em microscopia ótica (Cavacas, 2014).

1.4. Protocolo Experimental

As amostras utilizadas foram 39 lâminas, preparadas anteriormente, que foram observadas em microscópio ótico. Foram utilizadas 2 ampliações diferentes: 10x e 40x. De seguida, as amostras foram fotografadas e analisadas consoante a sua morfologia (figura 11). A seleção da cúspide dependeu da qualidade das fotografias, sendo que dentro do mesmo mês, analisaram-se as mesmas cúspides, tanto nos dentes de exposição como de controlo.

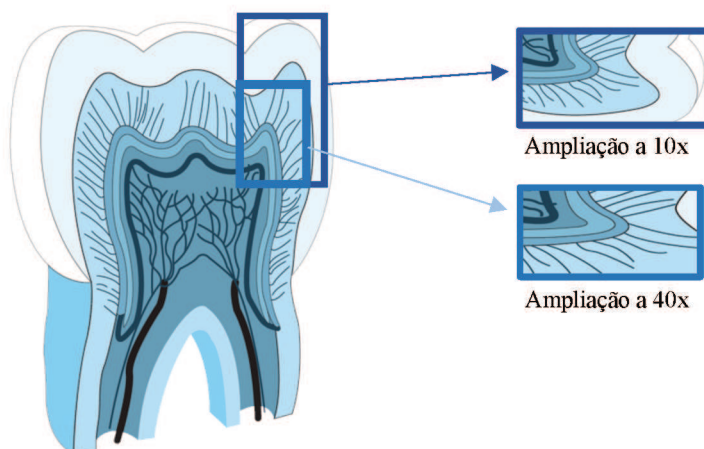


Figura 11. Esquema da região do dente de rato Wistar analisada: corno pulpar e respetiva cúspide a uma ampliação de 10x e câmara do corno pulpar a 40x (adaptado de Kumar, 2011).

IV. Resultados

1. Análise Histológica

1.1. Grupo 1º Mês

No primeiro mês observam-se diferenças entre os grupos de controlo e de exposição. Na figura 12 constam duas amostras ao nível das cúspides mesiais analisadas na ampliação de 10x. A figura 12A apresenta uma amostra de cúspide mesial do grupo de controlo, com uma polpa coronária definida e aplanada. Na figura 12B, que representa o grupo de 1 mês de exposição ao ruído industrial, observa-se uma polpa coronária arredondada e mais distante da respetiva cúspide, com uma camada de dentina de maior espessura.

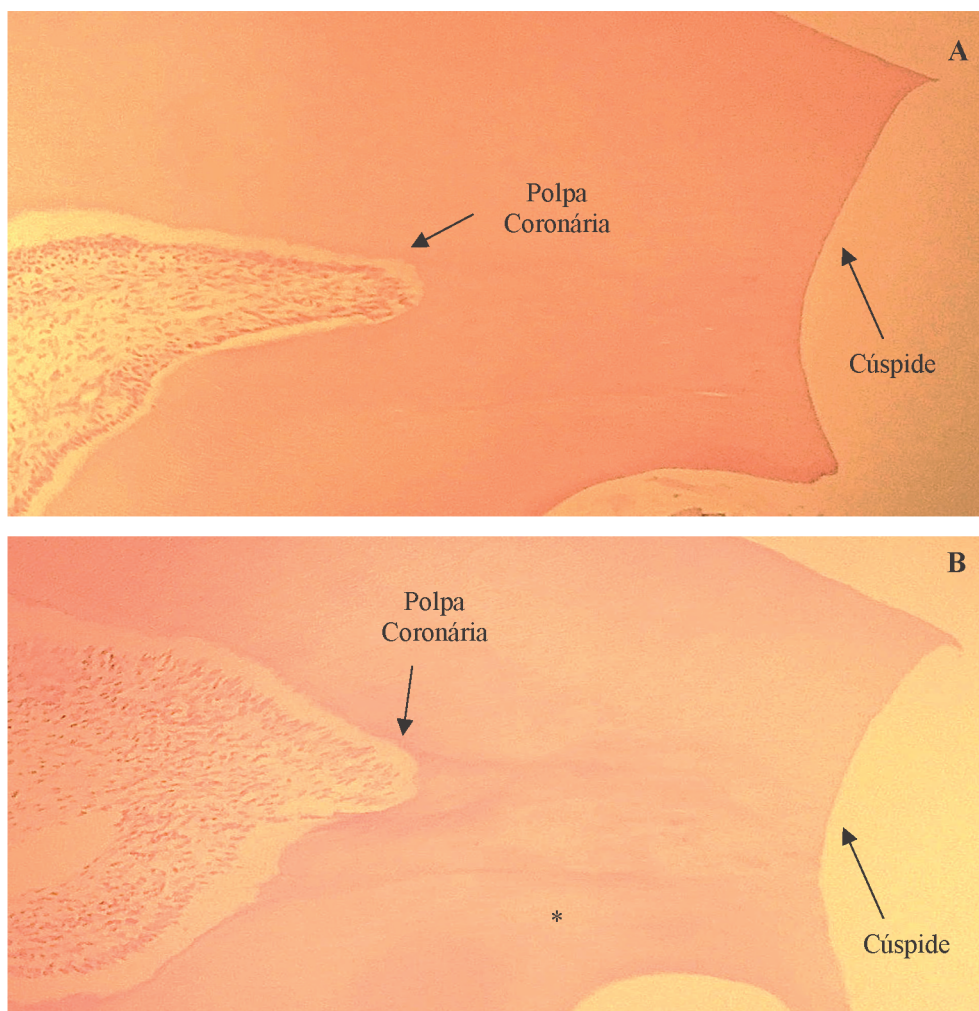


Figura 12. Fotomicrografias de cortes transversais de dentes de rato *Wistar* ao nível das cúspides mesiais. Amostras representativas de 1 mês de controlo (A) e de 1 mês de exposição (B) Observa-se um maior distanciamento da polpa coronária à respetiva cúspide e a presença de linhas incrementais de dentina terciária (*) (magnificação 10x, coloração HE).

As figuras 13A e B correspondem às amostras 13A e B respectivamente, numa ampliação de 40x. Em ambas as figuras observa-se uma camada de dentina, pré-dentina, odontoblastos, sub-odontoblastos e fibroblastos.

Na figura 13B, comparativamente à figura 13A, a dentina apresenta as denominadas linhas incrementais, que correspondem à deposição de dentina terciária, as camadas de pré-dentina e a camada odontoblástica apresentam uma menor espessura, sendo que estas últimas não se encontram no seu padrão normal (estratificados) e os túbulos dentinários, que contém os prolongamentos odontoblásticos, encontram-se menos visíveis. Observa-se uma zona pobre em células, denominada zona de *Weil*, e uma zona rica em células onde encontramos maioritariamente fibroblastos mais dispersos, com a sua morfologia padrão: estrelada e extensos prolongamentos. A camada de subodontoblástica também é visível, encontrando-se menos coesa que o normal. Na figura 13A, ainda é possível observar a presença de capilares sanguíneos.

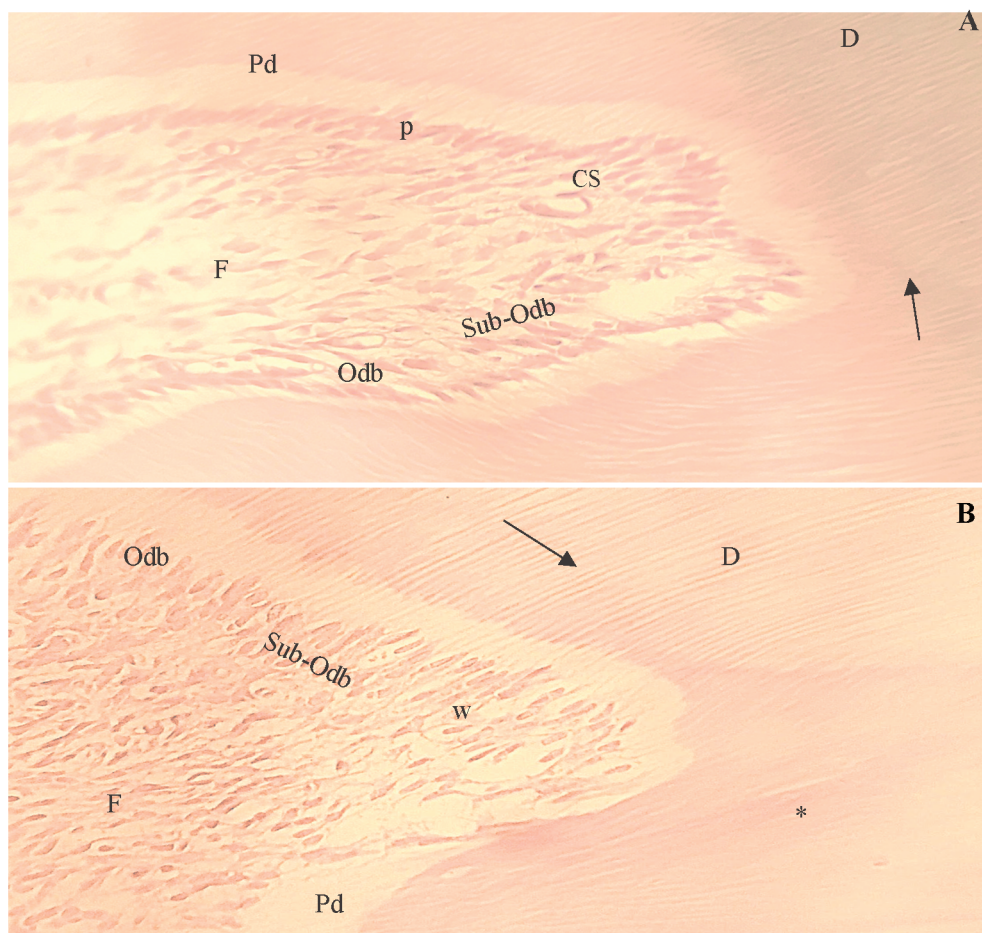


Figura 13. Fotomicrografias de cortes transversais de dentes de rato *Wistar* ao nível das cúspides mesiais. Amostras representativas de 1 mês de controlo (A) e de 1 mês de exposição (B), com uma magnificação de 40x (coloração HE). Dentina (D), pré-dentina (Pd), camada odontoblástica (Odb), túbulos dentinários (seta), camada subodontoblástica (Sub-Odb), zona de *Weil* (w), fibroblastos (F), linhas incrementais de dentina terciária (*) e capilares sanguíneos (CS).

1.2. Grupo 3º Mês

Nas amostras do 3º mês observam-se diferenças notórias entre os grupos de controlo e de exposição. Na figura 14 constam duas amostras de cúspides mesiais analisadas na ampliação de 10x. A figura 14A apresenta uma amostra de cúspide mesial do grupo de controlo, com uma polpa coronária definida. Na figura 14B, que representa o grupo de 3 meses de exposição ao ruído industrial, observa-se uma polpa coronária estreita, encontrando-se mais longe da cúspide, comparativamente com a câmara pulpar da figura 14A.

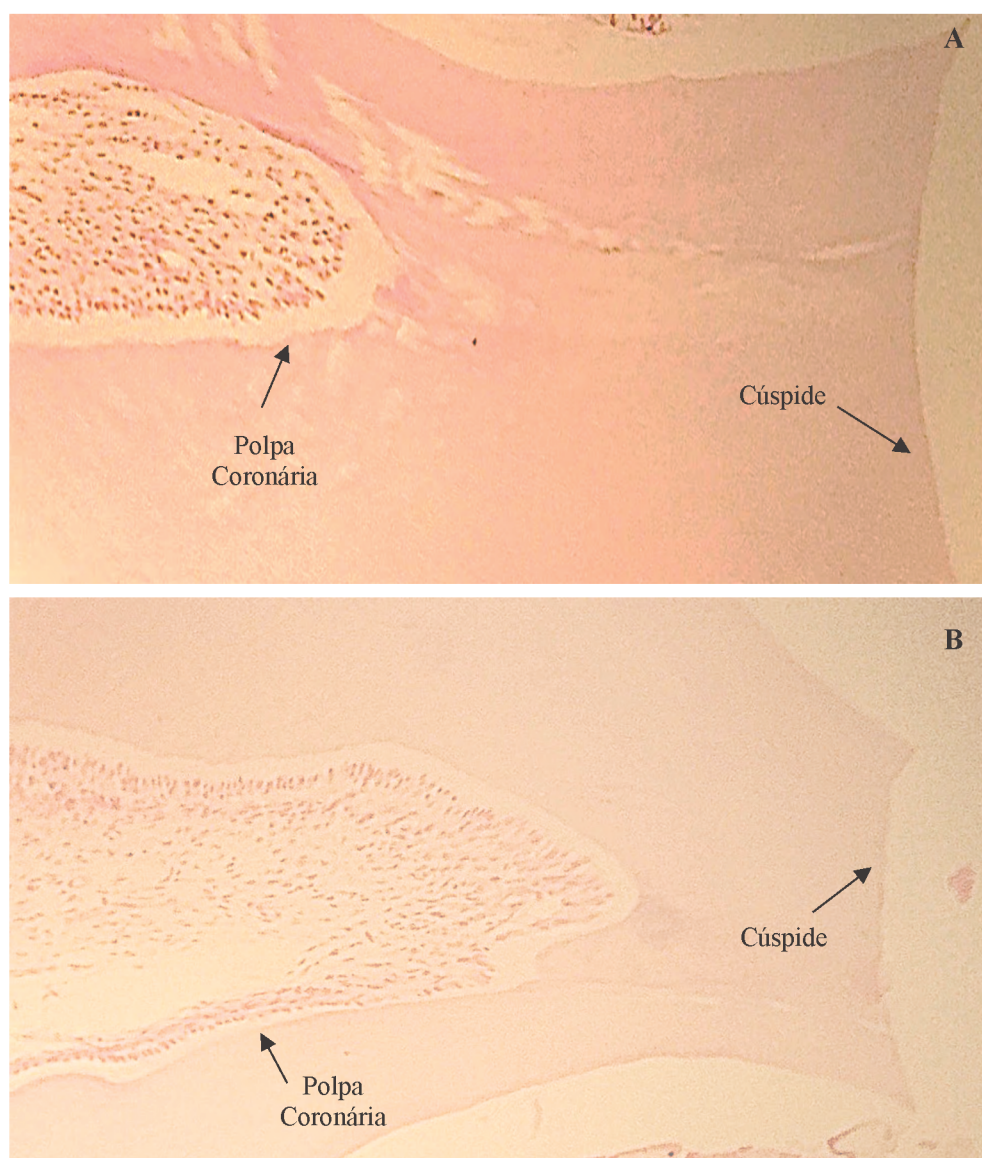


Figura 14. Fotomicrografias de cortes transversais de dentes de rato *Wistar* ao nível das cúspides mesiais. Amostras representativas de 3 meses de controlo (A) e de 3 meses de exposição (B). Observa-se uma desorganização das células ao nível da polpa, nomeadamente na região odontoblástica e um maior distanciamento da polpa coronária à respetiva cúspide (magnificação 10x, coloração HE).

A figura 15 apresenta duas imagens correspondentes às lâminas 14A e B, respectivamente, numa ampliação de 40x. Em ambas as figuras observam-se as camadas anteriormente analisadas. A figura 15B, comparativamente à figura 15A, apresenta uma camada de dentina com os túbulos dentinários menos definidos e linhas incrementais de dentina correspondentes à deposição de dentina terciária. A camada de pré-dentina encontra-se com uma menor espessura e a camada odontoblástica pouco definida, com os odontoblastos dispersos e pouco organizados na zona estrutura padrão: estrutura em paliçada desorganizada numa camada pseudo-estratificada. A camada sub-odontoblástica encontra-se desorganizada e com as suas células em menor número. Os fibroblastos apresentam-se em menor número, com uma morfologia idêntica ao seu normal porém, aparentemente com os prolongamentos respectivos encurtados. Na figura 15A, ainda é possível observar a presença de capilares sanguíneos.

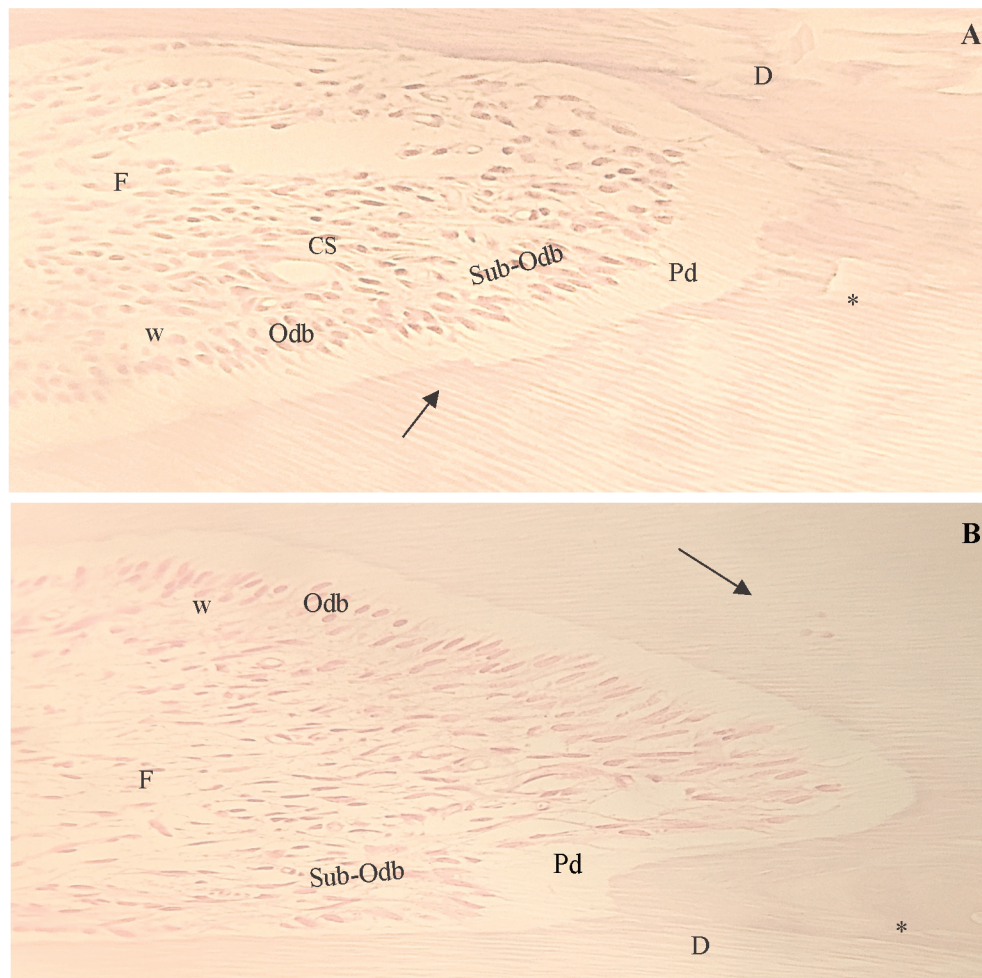


Figura 15. Fotomicrografias de cortes transversais de dentes de rato *Wistar* ao nível de cúspides mesiais. Amostras representativas de 3 meses de controlo (A) e de 3 meses de exposição (B), com uma magnificação de 40x (coloração HE). Dentina (D), pré-dentina (Pd), camada odontoblástica (Odb), túbulos dentinários (seta), camada subodontoblástica (Sub-Odb), zona de Weil (w), fibroblastos (F), linhas incrementais de dentina terciária (*) e capilares sanguíneos (CS).

1.3. Grupo 5º Mês

Nas amostras do 5º mês observam-se diferenças significativas entre os grupos de controlo e de exposição. Na figura 16 constam duas amostras de cúspides mesiais analisadas na ampliação de 10x. A figura 16A apresenta uma amostra de cúspide mesial do grupo de controlo, com uma polpa coronária definida mas pouco arredondada na sua extremidade. Na figura 16B, que representa o grupo de 5 meses de exposição ao ruído industrial, observa-se uma polpa coronária pouco arredondada, sendo que a sua extremidade não se encontra linear.

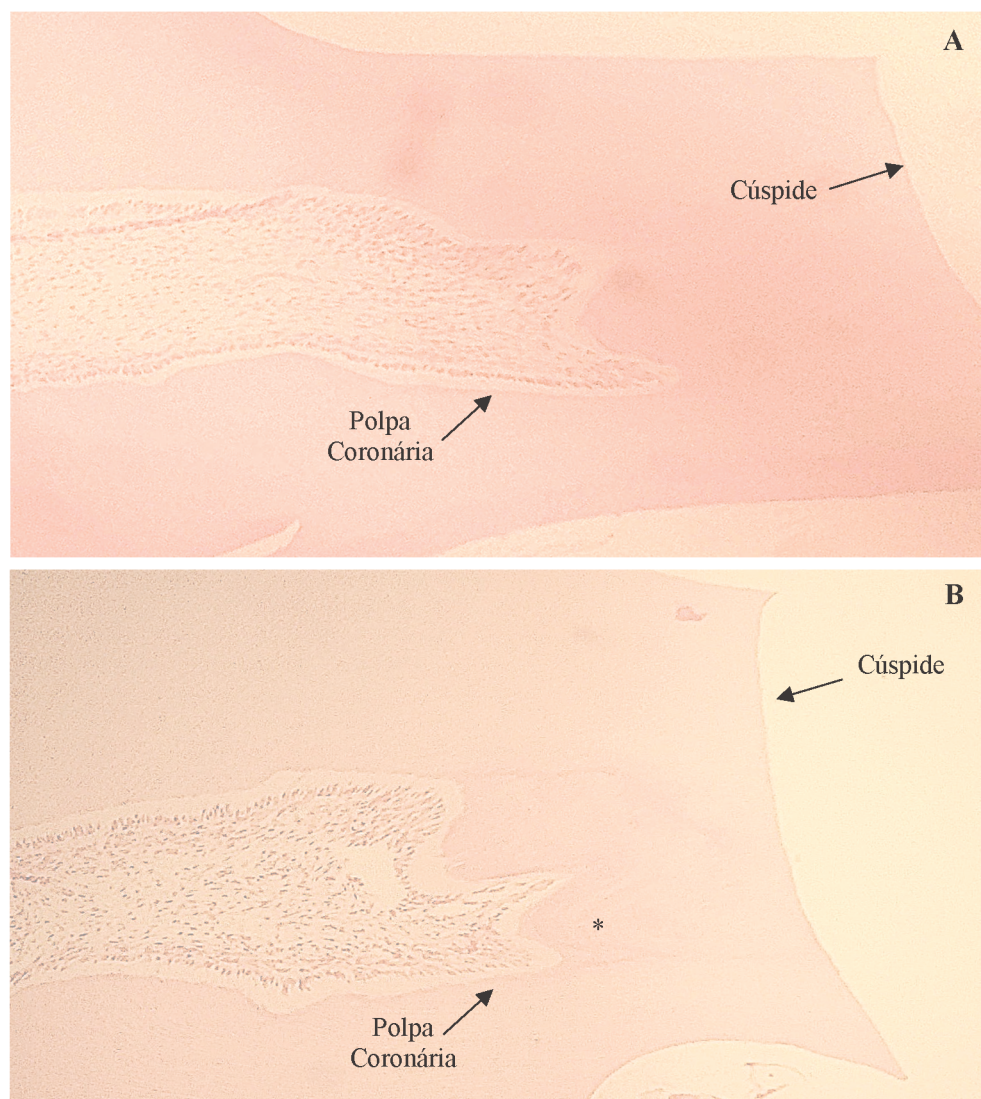


Figura 16. Fotomicrografias de cortes transversais de dentes de rato *Wistar* ao nível das cúspides mesiais. Amostras representativas de 5 meses de controlo (A) e de 5 meses de exposição (B). Observa-se grande área de dentina terciária (*) e uma desorganização das células ao nível da polpa, nomeadamente na região odontoblástica (magnificação 10x, coloração HE).

A figura 17 apresenta duas imagens correspondentes às lâminas 16A e B, respectivamente, numa ampliação de 40x. A figura 17B, comparativamente à figura 18A, apresenta uma camada de dentina com os túbulos dentinários pouco definidos e notórias linhas incrementais de dentina correspondentes à deposição de dentina terciária. A camada de pré-dentina encontra-se com uma menor espessura e a camada odontoblástica desorganizada, com menor número de células estratificadas, encontram-se estas dispersas com o seu corpo oval. A zona pobre em células é menos visível e na zona rica em células encontramos os fibroblastos em menor número, comparativamente com a amostra de controlo, apresentando uma morfologia idêntica ao seu normal: morfologia estrelada com prolongamentos. A camada subodontoblástica apresenta-se quase inobservável. Nestas amostras, não são observados capilares sanguíneos.

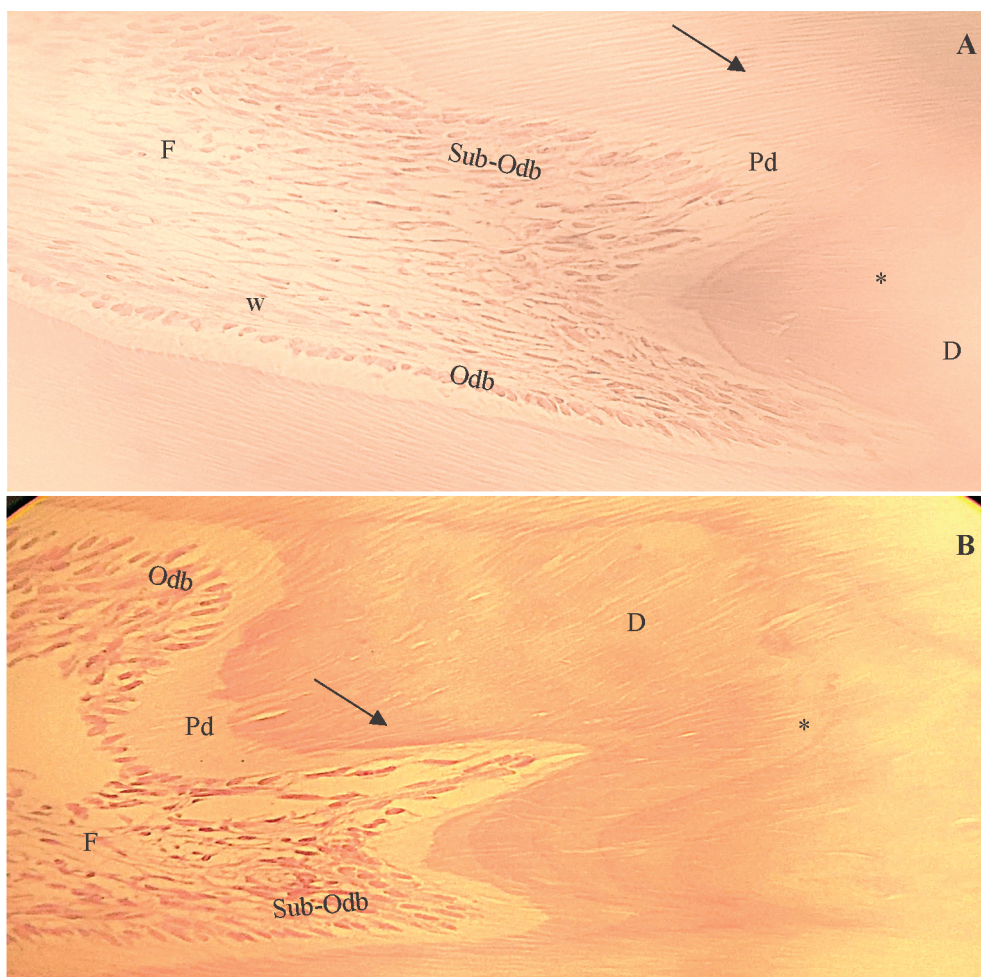


Figura 17. Fotomicrografias de cortes transversais de dentes de rato *Wistar* ao nível das cúspides mesiais. Amostras representativas de 3 meses de controlo (A) e de 5 meses de exposição (B), com uma magnificação de 40x (coloração HE). Dentina (D), pré-dentina (Pd), Camada odontoblástica (Odb), túbulos dentinários (seta), camada sub-odontoblástica (Sub-Odb) zona de *Weil* (w), fibroblastos (F), linhas incrementais de dentina terciária (*).

1.4. Grupo 7º Mês

Na figura 18 observam-se duas amostras ao nível das cúspides mesiais analisadas na ampliação de 10x. A figura 18A apresenta uma amostra de cúspide mesial do grupo de controlo, com uma polpa coronária estreita e definida. Na figura 18B, que representa o grupo de 7 meses de exposição ao ruído industrial, observa-se uma polpa coronária mais arredondada, encontrando-se mais próxima da cúspide.

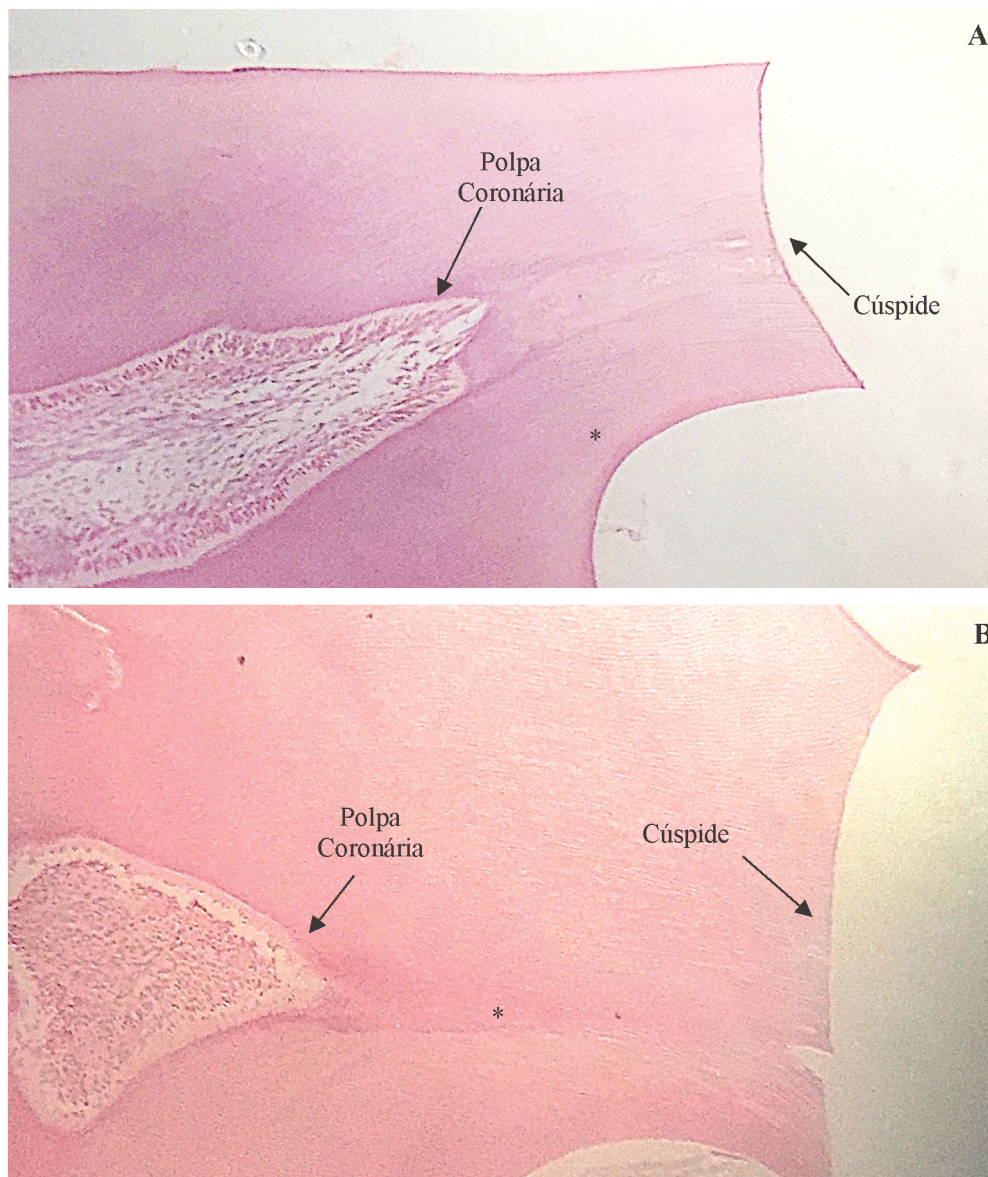


Figura 18. Fotomicrografias de cortes transversais de dentes de rato *Wistar* ao nível das cúspides mesiais. Amostras representativas de 7 meses de controlo (A) e de 7 meses de exposição (B). Observa-se uma desorganização das células ao nível da polpa, um encurtamento da câmara pulpar, um distanciamento desta à respetiva cúspide e linhas incrementais de dentina terciária (*) (magnificação 10x, coloração HE).

A figura 19 apresenta duas imagens correspondentes às lâminas 18A e B, respetivamente, numa ampliação de 40x. Em ambas as figuras observam-se as camadas anteriormente analisadas.

A figura 19B, comparativamente à figura 19A, apresenta uma camada de dentina com os túbulos dentinários pouco definidos e linhas incrementais de dentina pronunciadas. A camada de pré-dentina apresenta uma espessura notoriamente menor e, nalgumas regiões, encontra-se inexistente. A camada odontoblástica não se encontra demarcada, pelo que não se consegue definir os limites desta na amostra histológica. Os odontoblastos encontram-se desorganizados e com o respetivo corpo diminuído e ovóide. As células da camada subodontoblástica não são passíveis de se demarcar, concluindo-se assim que deverão ter sofrido diferenciação em odontoblastos. Contrariamente à figura 19B, na figura 19A conseguimos observar a zona pobre em células, ou zona de *Weil*, e a zona rica em células, observamos fibroblastos que se apresentam achatados, não sendo possível observar os seus prolongamentos, isto é, não se consegue distinguir o corpo dos seus outros constituintes. Na figura 19B, os fibroblastos encontram-se em maior número, e menos dispersos comparativamente com a amostra de controlo.



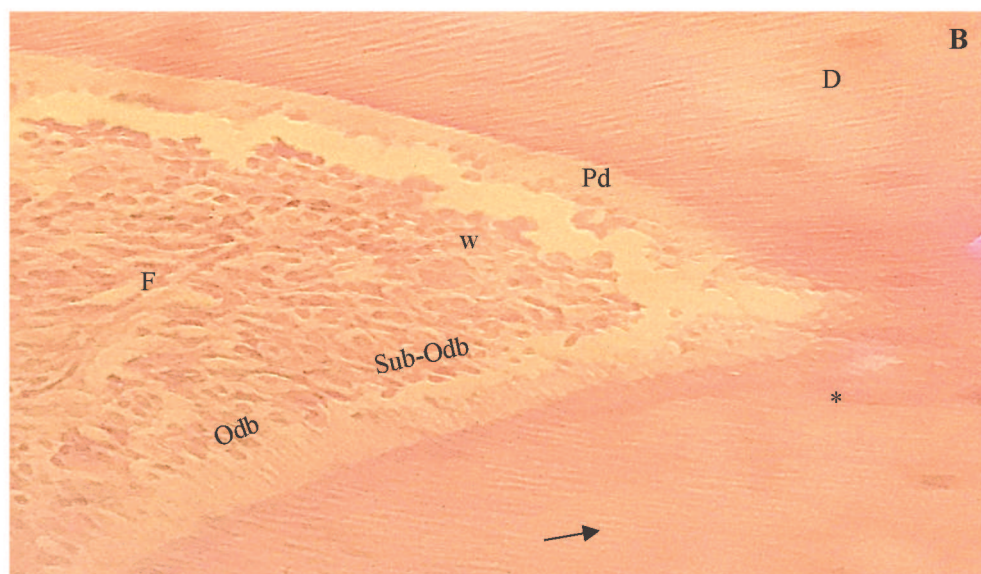


Figura 19. Fotomicrografias de cortes transversais de dentes de rato *Wistar* ao nível das cúspides mesiais. Amostras representativas de 7 meses de controlo (A) e de 7 meses de exposição (B), com uma magnificação de 40x (coloração HE). Dentina (D), pré-dentina (Pd), camada odontoblástica (Odb), túbulos dentinários (seta), camada subodontoblástica (Sub-Odb) zona de Weil (w), fibroblastos (F), linhas incrementais de dentina terciária (*).

Tabela 3. Descrição da densidade e morfologia dos cinco constituintes dentários analisados: dentina, pré-dentina, camada odontoblástica, camada subodontoblástica e fibroblastos.

<i>Região da Amostra</i>	<i>Densidade Celular</i>	<i>Morfologia</i>
<i>Dentina</i>	-	Aumento da espessura pela deposição de dentina terciária.
<i>Pré-dentina</i>	-	Diminuição da sua espessura.
<i>Camada odontoblástica</i>	Menor	Pseudo-estratificada com o corpo ovoide e curtos em comprimento; os prolongamentos odontoblásticos menos definidos.
<i>Camada Subodontoblástica</i>	Menor	Diferenciam-se em <i>odontoblastos-like-cells</i> .
<i>Fibroblastos</i>	Menor	Dispersos e achatados.

V. Discussão

As células dentárias adaptam-se tanto com o avançar da idade como em resposta a estímulos externos, como é o caso do ruído industrial. Os dentes de rato *Wistar* apresentam uma morfologia semelhante aos dentes humanos. Inúmeras investigações sugerem que a fisiologia e histologia da polpa dentária de humano e de rato é similar tanto em forma como em funcionalidade (Pinzon, 1967). Assim, utilizaram-se dentes de rato pois estas amostras podem ser igualmente usadas em grandes quantidades e submetidas sob condições controladas.

Das amostras estudadas, foram observadas e analisadas as correspondentes ao 1º, 3º, 5º e 7º meses, tanto de controlo como de exposição ao ruído industrial.

Histologicamente, a polpa pode ser dividida em duas regiões: central e periférica. Na região periférica, a zona da polpa que foi analisada neste estudo, encontram-se os odontoblastos, que por sua vez comunicam com a dentina através dos seus prolongamentos.

A descrição histológica restringiu-se à camada de dentina, pré-dentina, odontoblastos, sub-odontoblastos e fibroblastos. A dentina foi identificada como a área abrangente da polpa, sendo classificada como tecido conjuntivo, contendo múltiplos túbulos dentinários compactos que percorrem toda a sua espessura. A camada de pré-dentina encontra-se entre a polpa e a dentina, distinguindo-se desta por apresentar uma coloração de menor intensidade – por não ser mineralizada. Os odontoblastos foram identificados como as células que revestem a região mais externa da polpa. A sua morfologia é composta pelo corpo e pelos prolongamentos odontoblásticos, que se encontram nos túbulos dentinários, pelo que estas células apresentam interações com a dentina. Na polpa coronária, estas células aparecem com um padrão de paliçada, com cerca de três a cinco células de profundidade (Couve, 1986; Magloire, 2009; Smith, 2009; Daud, 2014). A seguir à camada odontoblástica, encontramos as células subodontoblásticas que, quando o dente se encontra ameaçado por exposição a um estímulo externo, se diferenciam em *odontoblastos-like-cells* com atividade reparadora (Murray, 2002; Smith, 2002; Daud, 2014; Hossain, 2017). Na zona rica em células, os fibroblastos são o tipo de célula presente em maior número, pelo que são facilmente identificados na zona central da polpa. Este tipo de células apresenta uma morfologia estrelada e extensos prolongamentos, sendo que são responsáveis pela produção de fibras

de colagénio e pelo *turn-over* matriz extracelular (Burke, 1995; Murray, 2002; Daud, 2014; Hossain, 2017).

O efeito primário e mais frequentemente relatado do ruído de baixa frequência não é o de sonoridade ou ruído, mas o de irritação (Berglund, 1996). Inúmeros estudos relacionam a exposição crónica ao RBF com o aumento do *stress* (Broner, 1978; Backteman *et al.*, 1984; Berglund *et al.*, 1996; Leventhall, 2004). Os agentes *stressantes* são capazes de alterar a homeostasia individual e, conseqüentemente, repercutir-se fisicamente (Cavacas, 2014).

O *stress* é reconhecido como um desencadeador da hiperatividade dos músculos mastigadores, pelo que a contração destes conduz a um contacto entre os dentes, muitas vezes forçado – hábito parafuncional denominado bruxismo. Sendo o ruído uma condição causadora de *stress*, o sistema estomatognático torna-se uma válvula de escape para a libertação deste (Slavicek, 2006).

Os estudos de Cavacas *et al.* (2013; 2014), sugerem que a exposição ao RBF aumenta o *stress*, levando ao aumento do desgaste dentário. Kovacevic e Belojevic (2006) demonstraram que a exposição de indivíduos a um alto nível de ruído industrial está significativamente relacionado com o aparecimento de lesões de abrasão dentária. Este processo pode resultar da repetição da contração muscular mastigatória e das atividades parafuncionais em ambientes de ruído.

As alterações morfológicas (a nível do desgaste dentário) e histológicas (a nível das alterações das células pulpares e regiões adjacentes) que se observam podem estar relacionadas com o impacto direto da pressão sonora ou com uma resposta adaptativa do complexo pulpo-dentinário devido ao ranger dos dentes. Este estudo corrobora os resultados da investigação de Cavacas *et al.* (2013), porque se verifica que o ruído industrial tem capacidade para envelhecer precocemente o dente, tanto pela vibração que este causa nas estruturas dentárias, como pelo aumento do *stress* que indiretamente acelera o desgaste dentário.

Estudos de Pinzon (1967), Lavelle (1968), Burke (1995), Moore (1996), Murray (2002), Smith (2002), Goldberg (2004), Couve (2013), Daud (2014) e Hossain (2017) demonstram as mudanças significativas que ocorrem na organização e densidade das células pulpares com a idade e quando submetidas a um estímulo externo. Sabe-se que o envelhecimento dentário se reflete na diminuição do volume da câmara pulpar –

provocado pela contínua deposição de dentina – redução do suplemento vascular, degeneração de axónios mineralizados e não-mineralizados, formação de feixes fibróticos, redução da densidade odontoblástica e fibroblástica, e aparecimento de calcificações na polpa (Nanci, 2012; Iezzi, 2019).

No geral, o número de células pulpares é menor quando o dente se encontra envelhecido ou quando é submetido a um estímulo negativo – caso do RBF. Esta redução é justificada pelas alterações a que o tecido pulpar está sujeito de modo a se adaptar ao estreitamento da câmara pulpar, que ocorre pela deposição de dentina terciária (Murray, 2002).

Os odontoblastos sofrem uma redução na sua densidade, provavelmente explicada pela redução do tamanho destes e reorganizam-se em células pseudoestratificadas, de forma ovóide e curtas em comprimento, deixando de se organizar em camadas, passando a apenas uma linha de células. Este aspeto corrobora os estudos anteriormente mencionados. Assim, verifica-se uma redução da espessura da camada odontoblástica, causada sobretudo pela diminuição do tamanho das células. Nos estudos de Iezzi (2019), observa-se que os odontoblastos apresentam uma atividade autofágica diminuída, que resulta numa acumulação intracelular de lípidos e, consequentemente, a perda de funcionalidade. Estas modificações afetam a importante atividade odontoblástica, tal como Murray (2002) afirmou: “o envelhecimento afeta as atividades fisiológicas e funcionais dos odontoblastos, resultando numa menor capacidade de responder às agressões”.

Subjacente a esta camada odontoblástica, encontra-se a zona pobre em células, ou zona de *Weil*, que permite algum movimento aos corpos dos odontoblastos (Nanci, 2012). Neste presente estudo, conclui-se que esta região diminui a sua espessura com o avançar da idade, isto porque as células pulpares se reorganizam como consequência da diminuição do volume da câmara pulpar.

De acordo com os estudos de Murray (2002), Smith (2002), Daud (2014) e Hossain (2017), as células subodontoblásticas diminuem a sua densidade pois diferenciam-se em *odontoblastos-like-cells* que apresentam atividade reparadora. Estas células, que possuem núcleos ovais grandes e citoplasma eosinófilo, tornam-se, com o envelhecimento, progressivamente mais achatadas e com escasso citoplasma.

Avançando internamente na região analisada, encontramos a zona rica em células, que contém maioritariamente fibroblastos, macrófagos, células dendríticas,

células indiferenciadas, linfócitos, células endoteliais e células sanguíneas como eritrócitos e leucócitos (Avery & Chiego, 2006).

Segundo Burke (1995), Murray (2002), Daud (2014) e Hossain (2017), os fibroblastos aparecem achatados e fusiformes, com menor densidade. Contudo, nos estudos de Smith (2002), as células fibroblásticas apresentam um pequeno aumento no número, apesar de pouco significativo, este facto sugere que a densidade dos fibroblastos não é tão regulada como as outras células pulpares. Por outro lado, com o aumento da idade, as fibras de colagénio aumentam – estas são sintetizadas pelos fibroblastos – isto porque a quantidade de tecido fibroso permanece constante em simultâneo com a diminuição do tamanho da câmara pulpar, graças à deposição de dentina terciária (Burke, 1995). Os fibroblastos são responsáveis pela manutenção da matriz da polpa dentária através da produção e *turnover* da matriz extracelular e do colagénio, tendo um importante papel na reparação dentária, pois proporciona a cicatrização do tecido dentário durante a ocorrência de uma lesão dentária (Nanci, 2012; Daud, 2014; Izzie, 2019).

A espessura da camada dentinária foi outro aspeto analisado: a dentina apresenta um aumento na sua densidade aquando da exposição ao ruído industrial, encontrando-se também uma maior irregularidade. De acordo com os estudos de Pinzon (1967), Burke (1995), Murray (2002) e Smith (2002), este aumento deve-se ao facto dos odontoblastos secretarem dentina terciária como resposta ao estímulo externo de forma a proteger a polpa – sendo que este não se demonstrou demasiado agressivo, caso contrário, a função dos odontoblastos diminuía pois sofriam morte celular. Ao contrário da dentina secundária, que é fisiológica e se forma ao longo da vida do dente, a formação de dentina terciária reaccionária ocorre como resposta ao estímulo, pelo que se localiza na parede da câmara pulpar, como se pode observar nas imagens dos resultados desta investigação (Smith, 1995). Em oposição, a camada de pré-dentina diminui a sua espessura com o envelhecimento (Burke, 1995).

Neste estudo foi possível observar uma diminuição na visibilidade de vasos sanguíneos da polpa coronária. Este facto corrobora o estudo de Burke (1995), onde é demonstrado que ocorre um decréscimo no número de vasos sanguíneos presentes na polpa com o envelhecimento. Os vasos sanguíneos sofrem alterações que resultam num suprimento sanguíneo diminuído para as células na porção coronal da polpa, especialmente na camada subodontoblástica. Por outro lado, podem ocorrer calcificações,

especialmente na região apical da polpa, que impossibilitam o fornecimento destes vasos à região coronária.

As alterações qualitativas demonstradas neste estudo são de extrema importância pois indicam que o complexo pulpo-dentinário é essencial para a proteção e manutenção da vitalidade do dente. As células pulpares são as responsáveis pela capacidade de reparação dentinária: a densidade da camada odontoblástica, nomeadamente, é um fator crítico da capacidade de resposta reparadora do dente a um estímulo externo. Quando submetidas a ruído industrial, as regiões da polpa estudadas sofrem alterações compatíveis com um envelhecimento precoce e, quanto mais tempo as amostras são expostas a este estímulo, mais notórias são estas modificações.

VI. Conclusão

Este estudo qualitativo teve como objetivo identificar, analisar e caracterizar, sob o ponto de vista morfológico e histológico as alterações que ocorrem na polpa dentária e regiões adjacentes do dente de rato *Wistar* exposto ao ruído industrial.

Confirmou-se a existência de alterações nas cinco regiões analisadas: dentina circumpulpar, pré-dentina, camada odontoblástica, camada subodontoblástica e fibroblastos. Verificou-se a diminuição do volume da câmara pulpar, como consequência do aumento da secreção de dentina terciária pelos odontoblastos, que provoca uma diminuição da densidade celular pulpar. Assim, rejeitamos a hipótese nula já que encontramos diferenças na densidade celular pulpar entre os dentes de rato *Wistar* submetidos a ruído (grupos de exposição) e os dentes não submetidos (grupos de controlo).

Os resultados sugerem que a exposição ao ruído industrial parece desencadear um envelhecimento precoce do dente já que as alterações encontradas no complexo pulpo-dentinário correspondem às mesmas modificações que este sofre com o decorrer do tempo. Este envelhecimento precoce ocorre tanto por ação do *stress*, que leva a uma hiperativação dos músculos mastigatórios e, consequentemente, ao aparecimento de hábitos parafuncionais, como é o caso do bruxismo – o sistema estomatognático torna-se uma válvula de escape ao *stress* – como pelo impacto direto do ruído pela vibração das estruturas.

Em síntese, encontramos uma evidente relação entre a exposição ao ruído industrial e os seus efeitos no dente: este estímulo externo tem capacidade de provocar uma reação por parte do complexo pulpo-dentinário, com alterações morfológicas e histológicas compatíveis com um envelhecimento precoce do dente. Assim, e tendo em conta que os resultados dos estudos a nível de dentes de rato *Wistar* podem ser extrapoladas para dentes humanos, é de extrema importância as mudanças que ocorrem nestes aquando da exposição a um agente externo.

Em estudos futuros, pretende-se quantificar as alterações celulares encontradas ao nível da polpa dentária.

VII. Bibliografia

Addy, M. & Shellis, R. P. (2006). Interaction between Attrition, Abrasion and Erosion in Tooth Wear. Lussi A (ed): *Dental Erosion*. Monogr Oral Sci. Basel, Karger, vol 20, 17- 31

Antunes, E., Borrecho, G., Oliveira, P., Matos, A. P. A. De, Brito, J., & Águas, A., (2013). Effects of low-frequency noise on cardiac collagen and cardiomyocyte ultrastructure : an immunohistochemical and electron microscopy study, 6(11), 2333–2341.

Avery, J. K. & Chiego, D. J. (2006). *Essentials of Oral Histology and Embryology: A Clinical Approach*. (3a Edição). Mosby Elsevier.

Babisch, W., Basner, M., Gori, T. & Munzel, T. (2014). Cardiovascular effects of environmental noise exposure. *European Heart Journal*; 35, 829-836.

Baume, L. J. (1980). The biology of pulp and dentine. A historic, terminologic-taxonomic, histologic-biochemical, embryonic and clinical survey. *Monographs in Oral Science*; 8: 1–220.

Berglund, B. & Lindvall, T. (1995). Community Noise. *Archives of the Center for Sensory Research*, 2(1), 1-195.

Berkovitz, B. K., Holland, G. R. & Moxham, B. J. (2016). *Oral Anatomy, Histology and Embryology*. Mosby Elsevier.

Bernick, S. & Nedelman, C. (1975). Effect of aging on the human pulp. *Journal of Endodontics*; 1(5): 88-94.

Broner, N. (1978). The effects of low frequency noise on people – A review. *Journal of Sound and Vibration*, 58(4), 483-500.

Burke, F. M. & Samarawickrama, D. Y. D. (1995). Progressive changes in the pulpo-dentinal complex and their clinical consequences. *Gerodontology*; 12(2): 57-66.

Cavacas, M. A. (2014). Alterações morfológicas dentárias provocadas pelo ruído industrial. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar - Universidade do Porto.

Cavacas, M. A., Tavares, V., Borrecho, G., Oliveira, M. J., Oliveira, P., Águas, A. & Martins dos Santos, J. (2015). Industrial Noise and Tooth Wear – Experimental Study, *I2(3)*, 3–8.

Cavacas, M. A., Tavares, V., Oliveira, M. J., Oliveira, P., Sezinando, A. & Martins dos Santos, J. (2013). Effects of industrial noise on circumpulpar dentin - A field emission scanning electron microscopy and energy dispersive spectroscopy analysis. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 6(12), 2697–2702.

Castro, J. J. & Santos, A. M. (1998). Stress. *Análise Psicológica*, 4 (XVI): 675-690.

Cate, A. R. T. (1998). Oral Histology: Development, Structure and Function (5th ed). Mosby.

Cohen, S. & Hargreaves, K. M. (2011). Cohen's Pathways of the Pulp (10^a Edição). Mosby Elsevier.

Couve, E. (1986). Ultrastructural Changes During the Life Cycle of Human Odontoblasts. *Archives of Oral Biology*, 31 (10), 643-651.

Couve, E., Osorio, R. & Schmachtenberg, O. (2012). Mitochondrial Autophagy and Lipofuscin Accumulation in Aging Odontoblasts. *Journal of Dental Research*, 91, 696–701.

Couve, E., Osorio, R. & Schmachtenberg, O. (2013). The Amazing Odontoblast: Activity, Autophagy, And Aging. *J Dent Res*; 92(9):765-772.

Cox, P. G., Fagan, M. J., Rayfield, E. J. & Jeffery, N. (2011). Finite element modelling of squirrel, guinea pig and rat skulls: using geometric morphometrics to assess sensitivity. *Journal of Anatomy*, 219, 696-709.

Cox, P. G., Rayfield, E. J., Fagan, M. J., Herrel, A., Pataky, T. C. & Jeffery, N. (2012). Functional Evolution of the Feeding System in Rodents. *PLoS ONE* 7(4): e36299.

Daud, S., Nambiar, P., Hossain, M. Z., Rahman, M. R. A. & Bakri, M. M. (2014). Changes in cell density and morphology of selected cells of the ageing human dental pulp. *Gerodontology*, 1–7.

Decreto-Lei nº182/2006 de 06 de Setembro. *Diário da República nº 172/2006 – I Série*. Lisboa: Ministério do Trabalho e da Solidariedade Social. 6584-6593.

Fonseca, J., Martins dos Santos, J., Oliveira, P., Laranjeira, N., Aguas, A. & Castelo-Branco, N. (2012). Noise-induced gastric lesions: a light and electron microscopy study of the rat gastric wall exposed to low frequency noise. *Arq Gastroenterol*; 49: 82-88.

Gazzaniga, M. S. & Heatherton, T. F. (2007). *Ciência psicológica: Mente, cérebro e comportamento*. Artmed Editora.

Goldberg, M., Smith, A. J. & Nagai, N. (2004). Cells and Extracellular Matrices of Dentin and Pulp: A Biological Basis for Repair and Tissue Engineering. *J. Hard Tissue Biology*; 13(2): 55-72.

Hashemipour, M. A., Moslemi, F., Mirzadeh, A. & Mirzadeh, A. (2018). Parafunctional Habits and Their Relationship with Temporomandibular Joint Disorders in Iranian School Students. *Meandros Med Dent J*; 19: 247-53.

Hassmén, P., Berglund, B. & Job, R. F. S. (1996). Sources and effects of low-frequency noise. *J. Acoust. Soc. Am.* 99 (5).

Hänninen, O., Knol, A. N., Jantunen, M., Lim, T., Conrad, A., Rappolder, M., Carrer, P., Fanetti, A., Kim, R., Buekers, J., Torfs, R., Iavarone, I., Classen, T., Hornberg, C., Mekel, O. C. L. & EBoDE Working Group (2014). Environmental Burden of Disease in Europe: Assessing Nine Risk Factors in Six Countries. *Environmental Health Perspectives*; vol. 122, nº5.

Hiimae, K. M., Ardran, G. M. (1968). A cinefluorographic study of mandibular movement during feeding in the rat (*Rattus norvegicus*). *Journal of Zoology*, 154, 139-154.

Hofstetter, J., Suckow, M. A. & Hickman, D. L. (2006). Morphophysiology. Capítulo 4, 94-125.

Hossain, M. Z., Daud, S., Nambiar, P., Razak, F. A., Ab-Murat, N., Saub, R. & Bakri, M. M. (2017). Correlation between numbers of cells in human dental pulp and age: implications for age estimation. *Archives of Oral Biology*; 80: 51-55.

Hu, J. C.-C., Chun, Y.-H. P., Al Hazzazzi, T. & Simmer, J. P. (2007). Enamel formation and amelogenesis imperfecta. *Cells Tissues Organs*, 186(1), 78-85.

Iezzi, I., Pagella, P., Mattioli-Belmonte, M. & Mitsiadis, T. A. (2019). The effects of ageing on dental pulp stem cells, the tooth longevity elixir. *Ageing and dental pulp stem cells*. European Cells and Materials. Vol. 37, pp 175-185.

Kollar, E. J. & Baird, G., R. (1970). Tissue interactions in embryonic mouse tooth germs. I. Reorganization of the dental epithelium during tooth-germ reconstruction. *Embryol. Exp. Morph.* Vol. 24, 1, pp. 159-171.

Kovacevic, M. & Belojevic, G. (2006). Tooth Abrasion in Workers Exposed to Noise in the Montenegrin Textile Industry. *Industrial Health* 44, 481-485.

Kumar, G. S. (2011). Orban's Oral Histology and Embryology. 13a Edição, pp. 50–150). Elsevier.

Lavelle, C. L. B. (1968). Effect of Age on the Histologic Structure of the Incisors of the Rat (*Rattus norvegicus*). *J Dent Rest*; 47(4): 590-593.

Lavigne, G. J., Khoury, S., Abe, S., Yamaguchi, T. & Raphael, K. (2008). Bruxism physiology and pathology: an overview for clinicians. *J Oral Rehabil.* 35(7):476-94.

Leventhall, G. (2004). Low frequency noise and annoyance. *Noise and Health*, 6;23, 59-72.

Linde, A. & Goldberg, M. (1993). Dentinogenesis. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 4(5), 679-728.

Magloire, H., Couble, M. L., Romeas, A. & Bleicher, F. (2003). Odontoblast primary cilia: Facts and hypotheses. *Cell Biology International*, 28, 93–99.

Magloire, H., Couble, M.-L., Thivichon-Prince, B., Maurin, J.-C. & Bleicher, F. (2009). Odontoblast: a mechano-sensory cell. *Journal of Experimental Zoology. Part B, Molecular and Developmental Evolution*, 312B(5), 416–424.

Martins dos Santos, J., Grande, N. R., Castelo Branco, N. A., Zagalo, C. & Oliveira, P. (2002) Vascular lesions and vibroacoustic disease. *Eur J Anat*; 6: 17-21

Martins dos Santos, J., Grande, N.R., Castelo Branco, N. A. A., Zagalo, C., Oliveira, P. & Alves-Pereira, M. (2004).Lymphatic lesions and vibroacoustic disease. *Eur J Lymphol* 2004; 12: 17-20.

Martins dos Santos, J., Oliveira, P., Fonseca J., Castelo Branco, N., Alves- Pereira, M. & Grande, N. (2005). Noise-induced duodenal lesions. *Eur J Anat* 9: 29–33.

Mendes, J. J., Oliveira, P. & Martins dos Santos, J. (2015). Low frequency noise effects on the periodontium of the Wistar rat – A light microscopy study. *European Journal of Anatomy*, 11 (1): 27-30.

Molina, O. F., Santos, J., Mazzetto, M., Nelson, S., Nowlin, T. & Mainieri, E. T. (2016). Oral Jaw Behaviores in TMD and Bruxism: A Comparison Study by Severity of Bruxism. *The Journal of Craniomandibular Practice*, vol. 19, nº. 2.

Moore, W. J. & Lavelle, C. L. B. (1969). Comparison of Cell Numbers in Pulps of Rodent Incisors and Molars. *J Dent Res*; 48, 597.

Murray, P. E., About, I., Lumley, P. J., Franquin, J. C., Remusat, M. & Smith, A. J. (2000). Human odontoblast cell numbers after dental injury. *Journal of Dentistry*, 28, 277–285.

Murray, P. E., Stanley, H. R., Matthews, J. B., Sloan, A. J. & Smith, A. J. (2002b). Age- related odontometric changes of human teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*, 93(4), 474–482.

Nanci, A. (2012). Ten Cate's Oral Histology Development, Structure, and Function, 8th ed., Elsevier Mosby.

Nanci, A. (2014). Ten Cate's Oral Histology - E-Book: Development, Structure, and Function. Elsevier Health Sciences.

Nixon, C. W. & Johnson, D. L. (1973). "Infrasound in hearing," in *Noise as a Public Health Problem*, edited by W. D. Ward ~Environmental Protection Agency, Washington D.C., pp. 329–348.

Ohazama, A., Haycraft, C. J., Seppala, M., Blackburn, J., Ghafoor, S., Cobourne, M., Martinelli, D. C., Fan, C.-M., Peterkova, R., Lesot, H., Yorder, B. K. & Sharpe, P. T. (2009). Primary cilia regulate Shh activity in the control of molar tooth number. *Development* 136:897-903.

Oliveira, P. M. A., Pereira da Mata, A. D. S., Martins dos Santos, J. A. M., Silva Marques D. N., Branco, N. C., Silveira J. M. L. & Correia da Fonseca, J. C. D. (2007). Low-frequency noise effects on the parotid gland of the Wistar rat. *Oral Diseases*; 13, 468-473.

Oliveira, M. R., Monteiro, M. P., Ribeiro, A. M., Pignatelli, D. & Águas, A. P. (2009). Chronic exposure of rats to occupational textile noise causes cytological changes. *Noise Health*; 11: 118-123.

Oliveira, M. R., Freitas, D., Carvalho, A. P., Guimarães, L., Pinto, A. & Águas, A.P. (2012) Exposure to industrial wideband noise increases connective tissue in the rat liver. *Noise Health* 2012; 14: 227-229.

Oud, M. (2012). Low-frequency noise: a biophysical phenomenon.

Pinzon, R.D., Kozlov, M. & Burgh, W.P. (1967). Histology of rat molar pulp at different ages. *J. Dent. Res.* 46, 202–208.

Porto, G. G., Vasconcelos, B. C. E., Andrade, E. S. S. & Amaro, V. (2010). Comparação entre a ATM humana e de ratos: achados anatômicos e histopatológicos. *Acta Ciúrgica Brasileira*, Vol. 25 (3).

Rosales, V. P., Ikeda, K., Hizaki, K., Naruo, T., Nozoe, S. & Ito, G. (2002). Emotional stress and brux-like activity of the masseter muscle in rats. *European Journal of Orthodontics*. 24, 107-117.

Schour, I. & Van Dyke, D. B. (1934). Changes of the teeth following hypophysectomy. II. Changes in the molar of the white rat. *J. Dent. Res.* 14, 69–84.

Stansfeld, S., Haines M. & Brown B. (2000). Noise and Health in the Urban Environment. *Reviews on environment health*; vol. 15, nº 1-2.

Slavicek, R. (2006). The masticatory organ: Functions and Dysfunctions. 2^aed. Klosterneuburg: Gamma Dental Edition; 2:136-138.

Smith, A. J., Cassidy, N., Perry, H., Begue-Kirn, C., Ruch, J. V. & Lesot, H. (1995). Reactionary dentinogenesis. *International Journal of Developmental Biology*, 39(1), 273–280.

Smith, A. J., Murray, P. E., Stanley, H. R., Matthews, J. B. & Sloan, A. J. (2002). Age- related odontometric changes of human teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 93, 474–482.

Smith, A. J., Matthews, J. B., Sloan, A. J. & Murray, P. E. (2002). Analysis of incisor pulp cell populations in Wistar rats of different ages. *Archives of Oral Biology* 47; 709–715.

Stansfeld, S., Haines M. & Brown B. (2000). Noise and Health in the Urban Environment. *Reviews on environment health*; vol. 15, nº 1-2.

Vercammen, M. L. S. (1992). Low-frequency noise limits, *Journal of low frequency noise and vibrations*, 11, pp. 7-13.

Williams, P. (1995). *Gray Anatomy*. 37 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, pp.1233-1234.

Zuardi, A. W. (2014). *Fisiologia do estresse e sua influência na saúde*. Academia edu, São Paulo, pp. 1-13.

